

*LAPORAN HASIL PENELITIAN TAHUN II*  
**HIBAH BERSAING**



**UPAYA PENYEDIAAN BIBIT PISANG 'AMBON CURUP' UNGGULAN PROPINSI BENGKULU  
DENGAN PEMBENTUKAN PLANLET  
SECARA *IN VITRO***

Oleh :  
Ir. MARLIN, M.Sc.  
Ir. MUKHTASAR, M.Si.  
Ir. HARTAL, M.P.

**DIBIYAI OLEH DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI,  
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL  
SESUAI DENGAN SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN HIBAH BERSAING  
NO : 009/SP2H/PP/DP2M/III/2008, TANGGAL 26 MARET 2008**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS BENGKULU  
2008**

### **HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR**

1. Judul Penelitian : Upaya Penyediaan Bibit Pisang ‘Ambon Curup’ Unggulan Propinsi Bengkulu dengan Pembentukan Planlet secara *in vitro*

2. Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap dan Gelar : Ir. Marlin, M.Sc.
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. NIP : 132086776
- d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- e. Jabatan Struktural : -
- f. Bidang Keahlian : Bioteknologi (Kultur Jaringan)
- g. Fakultas/Jurusan/Prodi : Pertanian/Budidaya Pertanian/Agronomi
- h. Perguruan Tinggi : Universitas Bengkulu
- i. Tim Peneliti

No	Nama	Bidang Keahlian	Prodi/Jurusan/Fakultas	Perguruan Tinggi
1.	Ir. Mukhtasar, M.Si	Fisiologi Tanaman	Agronomi/ Budidaya Pertanian/Pertanian	Universitas Bengkulu
2.	Ir. Hartal, M.P.	Ilmu Penyakit Tumbuhan	Ilmu Hama Penyakit Tumbuhan	Universitas Bengkulu

3. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian

- a. Jangka Waktu Penelitian yang diusulkan : 3 tahun
- b. Biaya Total yang diusulkan : Rp. 134.651.500
- c. Biaya yang disetujui Tahun II : Rp. 45.000.000

Dekan,

Bengkulu, Oktober 2008  
Ketua Peneliti,

Dr. Ir. Yuwana, M.Sc.  
NIP. 131627052

Ir. Marlin, M.Sc.  
NIP. 132086776

Mengetahui,  
Ketua Lembaga Penelitian

Drs. Sarwit Sarwono, M.Hum.  
NIP. 131601662

**Upaya Penyediaan Bibit Pisang ‘Ambon Curup’ Unggulan Propinsi Bengkulu dengan Pembentukan Planlet secara *in vitro***

Oleh :

*Marlin, Mukhtasar, dan Hartal*

**Laboratorium Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu**

**Jl. Raya Kandang Limun Bengkulu, Telp 0736-28765, E-mail :**

**[marlin\\_iin@yahoo.com](mailto:marlin_iin@yahoo.com)**

**RINGKASAN**

Usaha konservasi dan pengembangan pisang ambon Curup yang terdapat di Propinsi Bengkulu sangat penting dilakukan karena populasinya yang semakin berkurang akibat adanya serangan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*. Penyediaan bibit bermutu, dalam jumlah besar secara kontinyu merupakan aspek utama dalam budidaya pisang Ambon Curup. Perbanyak tanaman dengan teknik *in vitro* merupakan salah satu alternatif usaha yang dapat dilakukan untuk penyediaan bibit bermutu. Keberhasilan menginisiasi pembentukan organ dan somatik embrio tanaman dari jaringan meristem, merupakan langkah awal untuk menghasilkan planlet dengan multiplikasi yang tinggi. Pembentukan planlet secara *in vitro* memberikan peluang prospektif dalam penyediaan bibit pisang secara kualitas dan kuantitas. Keberhasilan teknik ini ditentukan pula oleh perlakuan *hardening* dan kemampuan planlet hasil kultur untuk beradaptasi dan tumbuh di lingkungan *ex vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi planlet pisang ‘Ambon Curup’ secara *in vitro* yang dapat beradaptasi di lingkungan sebagai bahan tanam sehat dan bermutu untuk perbanyakan massal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa multiplikasi tunas pisang ambon curup dapat ditingkatkan dengan pemberian  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dan BAP secara *in vitro*. Pada media dengan 825 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dan BAP 2 ppm, diperoleh rata-rata jumlah tunas tertinggi (8 tunas/eksplan). Pemberian 1650 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  memberikan rata-rata jumlah akar terbanyak (4 akar/eksplan), dan rata-rata jumlah daun tertinggi (3 daun/eksplan).

Pada media multiplikasi dengan pemberian 6 ppm kinetin tanpa IBA diperoleh saat tumbuh tercepat pada pembentukan tunas (2,67 hst), saat terbentuk akar (5 hst), saat tumbuh daun (6 hst), berat basah tunas (7,728 g), dan tinggi tunas (20,8 cm). Pemberian 3 ppm kinetin tanpa IBA menghasilkan rata-rata panjang akar tertinggi (29,13 cm) dan jumlah akar tertinggi (2,33 akar/eksplan). Hasil penelitian menunjukkan pula bahwa penambahan sukrosa 6% dan arang aktif 0.2 % diperlukan dalam media *hardening in vitro*. Pada proses aklimatisasi dalam *community pot* persentase hidup eksplan mencapai 100% pada semua media aklimatisasi. Pada media aklimatisasi pupuk kandang dengan penambahan *Trichoderma harzianum* pertumbuhan tanaman menunjukkan respon terbaik untuk semua peubah yang diamati.

Dengan pembentukan planlet yang sehat dan dapat beradaptasi di lingkungan alami diharapkan akan dapat memenuhi kebutuhan bibit pisang ‘Ambon Curup’ yang berkualitas dalam jumlah besar. Dengan demikian dapat mengatasi permasalahan penyediaan bibit pisang ambon curup sehat serta sebagai upaya pelestarian tanaman pisang ambon curup di Bengkulu.

**Kata Kunci :** *F. oxysporum*, BAP, NAA, kinetin, IBA, *hardening in vitro*, aklimatisasi

**Enhance an *in vitro* Plantlet Formation of Indigeneous Banana ‘Ambon Curup’  
in Bengkulu**

By :

*Marlin, Mukhtasar, dan Hartal*

**Labor of Agronomy, Faculty of Agriculture**

**Jl. Raya Kandang Limun Bengkulu, Telp 0736-28765, E-mail :**

**[marlin\\_iing@yahoo.com](mailto:marlin_iing@yahoo.com)**

**SUMMARY**

An effort to conserve and to develop local and indigenous banana in Bengkulu has to be done. Mostly banana in Bengkulu were infected by a fungal wilt diseases caused by *Fusarium oxysporum*. A tissue culture technology have an increasingly important role to play in the conservation certain plants of economic important, such as banana Ambon Curup. Embryo and organ formation initiated from a meristem part of banana plant lead to produce high multiplication plantlet regeneration, and to improve the quality and quantity of product. *In vitro hardening* treatments were required to prepare plantlet in acclimatization condition. The experiment was purposed to regenerate diseases-free plantlet of banana ‘Ambon Curup’ and to prepare plantlets prior to *ex vitro* transplanting.

The result showed that shoot multiplication were increased by supplementing of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> and BAP. In media with 825 mg/L of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> and 2 ppm of BAP, were attained the highest number of shoot (8 shoots/explant). In media with 1650 mg/L of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> were attained the highest number of root (4 roots/explant), and number of leaf (3 leaves/explant).

Whereas, in multiplication media with 6 ppm of kinetin without IBA, were promoted days of shoot formation (2,67 dap), days of root formation (5 hst), days of leaf formation (6 hst), shoot wet weight (7,728 g), and shoot length (20,8 cm). In media with 3 ppm of kinetin without IBA were increased root length (29,13 cm), and number of root (2,33 root/explant).

Media with 6% of sucrose and 0.2 % of activated charcoal were required to promoted plantlet growth *in vitro hardening* period. The plantlets were transferred successfully in acclimatization media. About 100 percent of plantlets were successfully transferred in to community pots. Media with *T. harzianum* showed the highest response to treatment in acclimatization conditions.

Results were attained in tissue culture works, proved that such technique had a prospective benefit in order to solve the problem faced in cultivation of plants, especially to enhance the high multiplication of *diseases-free plantlets* of banana ‘Ambon Curup’ in Bengkulu in order to improve plant quality and production.

**Key words:** *F. oxysporum*, BAP, NAA, kinetin, IBA, *in vitro* hardening, acclimatization

## PRAKATA

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis sampaikan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan karuniaNya maka Laporan Hasil Penelitian Hibah Bersaing ini dapat diselesaikan. Penelitian dengan judul ” Upaya Penyediaan Bibit Pisang ‘Ambon Curup’ Unggulan Propinsi Bengkulu dengan Pembentukan Planlet secara *in vitro* ” ini dilaksanakan dengan adanya bantuan dana dari Proyek Penelitian Hibah Bersaing,

Nomor : 009/SP2H/PP/DP2M/III/2008, 26 Maret 2008.

Tanaman Pisang Ambon Curup merupakan tanaman asli Propinsi Bengkulu, yang perlu dilestarikan dan dikembangkan sebagai salah satu plasma nutfah kekayaan Bengkulu yang memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Adapun kendala yang dihadapi dalam budidaya tanaman pisang Ambon Curup ini adalah kurang tersedianya bibit yang sehat dan bebas dari infeksi penyakit. Lebih dari 76 persen lahan pertanaman pisang Ambon Curup di Curup Kabupaten Rejang Lebong telah terinfeksi oleh jamur *Fusarium oxysporum*, yang menyebabkan tanaman layu dan mati. Melalui penelitian ini diharapkan dapat mengatasi masalah penyediaan bibit pisang Ambon Curup sehat yang bebas dari infeksi *F. Oxysporum*. Penelitian bertujuan untuk dapat menghasilkan planlet pisang ambon Curup yang sehat dan bebas dari infeksi jamur *F. Oxysporum*. Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Maret sampai dengan bulan Oktober 2008 di Laboratorium Agronomi Divisi Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang mendalam atas segala bantuan dalam pelaksanaan dan penyelesaian penelitian ini, kepada Bapak Ketua Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu beserta staf, Bapak Dekan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu, Bapak Ketua Laboratorium Agronomi Divisi Bioteknologi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu beserta laboran, mahasiswaku (Titi dan Aris) serta semua pihak yang tak dapat kami sebutkan satu persatu. Akhirnya penulis berharap agar laporan penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Bengkulu, Nopember 2008

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	i
<b>A. LAPORAN HASIL PENELITIAN</b>	
RINGKASAAN DAN SUMMARY .....	ii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR TABEL .....	viii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	8
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	19
BAB IV. METODE PENELITIAN .....	21
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	27
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	55
DAFTAR PUSTAKA .....	56
LAMPIRAN .....	60
<b>B. DRAFT ARTIKEL ILMIAH</b>	
<b>C. SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN</b>	

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Rumus bangun <i>Benzyl Amino Purine</i> (BAP).....	10
2. Rumus bangun Kinetin.....	11
3. Rumus bangun <i>indole butiric acid</i> (IBA).....	12
4. Histogram rerata persentase hidup eksplan pisang pada berbagai taraf konsentrasi Amonium Nitrat (N) dan BAP secara <i>in vitro</i> .....	28
5. Histogram rerata saat tumbuh tunas Pisang ambon curup pada berbagai konsentrasi Amonium Nitrat dengan BAP secara <i>in Vitro</i> .....	29
6. Histogram jumlah tunas pereksplan pisang ambon curup secara <i>in vitro</i> .....	30
7. Histogram persentase eksplan membentuk tunas pada berbagai taraf konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat secara <i>invitro</i> .....	31
8. Histogram tinggi tunas pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara <i>in vitro</i> .....	32
9. Histogram saat terbentuk akar pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara <i>in vitro</i> .....	33
10. Histogram jumlah akar eksplan pisang ambon curup trhadap konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat secara <i>in vitro</i> .....	33
11. Histogram panjang akar eksplan pisang ambon curup terhadap konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat secara <i>in vitro</i> .....	34
12. Histogram persentase terbentuk akar pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara <i>in vitro</i> .....	35
13. Histogram saat terbentuk daun pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara <i>in vitro</i> .....	35
14. Histogram jumlah daun pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara <i>in vitro</i> .....	36
15. Pertumbuhan daun Eksplan pisang ambon curup Secara <i>in vitro</i> .....	37
16. Pengaruh konsentrasi kinetin dan IBA terhadap saat terbentuk tunas (hst) pisang ambon Curup secara <i>in vitro</i> .....	39
17. Pengaruh konsentrasi kinetin dan IBA terhadap jumlah tunas (tunas/eksplan) pisang ambon Curup secara <i>in vitro</i> (12 minggu).....	40
18. Pengaruh konsentrasi kinetin dan IBA terhadap tinggi tunas (cm) pisang ambon Curup secara <i>in vitro</i> pada umur 12 minggu.....	41
	43

19. Tanaman pisang ambon Curup pada umur 12 minggu setelah tanam.....	46
20. Tanaman pisang ambon Curup pada umur 12 minggu setelah tanam .....	47
21. Tanaman pisang ambon Curup secara <i>in vitro</i> pada umur 12 minggu.....	
22. Pertumbuhan planlet pada media dengan penambahan sukrosa 3 dan 6% serta penambahan arang aktif 0.2 % (10 minggu kultur).....	51
23. Pertumbuhan planlet pada media dengan 6 % sukrosa tanpa pemberian arang aktif (10 minggu setelah kultur) .....	52
24. Planlet hasil kultur yang siap diaklimatisasi.....	53
25. Pertumbuhan planlet pisang ambon Curup sangat lambat pada saat 1 minggu aklimatisasi.....	53
26. Penampilan pisang ambon Curup pada media aklimatisasi (6 minggu aklimatisasi).....	55



# **DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Rangkuman hasil uji normalitas berdasarkan metode Kolmogorov-Smirnov ...	38
2. Rata – rata saat terbentuk akar (hst) .....	44
3. Rata – rata panjang akar (cm) .....	46
4. Rata – rata saat eksplan membentuk daun (hst) .....	48
5. Rata – rata pengamatan jumlah daun (daun/eksplan) .....	49
6. Rangkuman hasil sidik ragam pengaruh komposisi media compot terhadap pertumbuhan planlet pisang ambon Curup (6 minggu setelah tanam).....	54
7. Pengaruh komposisi media compot terhadap pertumbuhan pisang ambon Curup (6 minggu setelah tanam).....	55

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Pisang (*Musa spp.*) merupakan tanaman yang berasal dari Asia Tenggara yang keberadaannya sudah dikenal oleh masyarakat seluruh dunia sebagai komoditas buah tropis. Di Indonesia sendiri, pisang merupakan salah satu jenis tanaman buah-buahan yang banyak digemari oleh masyarakat. Hal ini dikarenakan pisang mempunyai rasa yang lezat, manis serta kandungan gizi yang cukup tinggi. Kandungan gizi yang terdapat dalam 100 gram buah pisang segar yang matang mengandung 99 kalori, 1,2 gram protein, 0,2 gram lemak, 2,58 gram karbohidrat, 0,7 gram serat, 0,8 gram kalsium, 2,8 gram fosfor, 0,5 gram besi, 4,4 gram vitamin A, 0,08 gram Vitamin B, 3 gram vitamin C, dan 72 gram air (Nri, 2006)

Indonesia mempunyai prospek yang sangat baik dalam mengembangkan tanaman pisang, karena iklimnya cocok untuk tanaman pisang serta ketersediaan lahan dan tenaga kerja yang banyak (Anonim, 2004). Peningkatan produksi pisang segar dari 4.177. 155. ton ditahun 2003 meningkat menjadi 4.393. 685. ton ditahun 2004 (Badan Pusat statistik, 2005). Untuk provinsi Bengkulu produksi pisang tahun 2004 mencapai 27. 992 ton/ha, dan pada tahun 2005 mengalami peningkatan menjadi 30. 385 ton/ha. (Badan Pusat Statistik Bengkulu, 2006). Tahun 2009 pemerintah Bengkulu metargetkan bisa memproduksi pisang 8835 ton (Dinas Pertanian Dan Ketahanan Pangan Provinsi Bengkulu, 2006).

Di Bengkulu terdapat 36 jenis pisang. Mukhtasar (2003) menyatakan pisang Ambon Curup adalah salah satu jenis pisang di Bengkulu yang memiliki tingkat

kompatibilitas ekologi yang baik. Pisang Ambon Curup mempunyai morfologi kulit buah berwarna kuning sedikit hijau dengan bercak coklat, daging buah berwarna putih kekuningan. Selain itu pisang Ambon Curup memiliki ciri yang berbeda dengan Pisang Ambon lainnya yaitu sudut buah yang jelas, mirip dengan Pisang Kepok (*Musa*; ABB) serta memiliki karakter yang berasal dari genom *M. balbisiana* (B). Pisang Ambon Curup dapat dijumpai di daerah Curup dengan ketinggian sampai 1000 meter di atas permukaan laut. Pisang Ambon Curup merupakan kultivar lokal yang mempunyai potensi untuk dikembangkan di Propinsi Bengkulu. Hasil survai dan penelitian yang dilakukan Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan bekerjasama dengan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu, merekomendasikan pisang Ambon Curup sebagai komoditas unggulan di Kabupaten Rejang Lebong (Apriyanto, dkk., 2004). Usaha pengembangan tanaman pisang Ambon Curup di Propinsi Bengkulu dilakukan melalui perbaikan teknik budidaya dan perluasan areal pertanaman. Upaya penyelamatan tanaman pisang Ambon Curup dari serangan penyakit layu *Fusarium* ini sangat penting dilakukan agar terhindar dari kepunahan.

Sejak tahun 1996-2001 terjadi penurunan produksi pisang 'Ambon Curup' akibat adanya serangan penyakit layu yang disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum*. Sekitar 76% lahan pertanaman pisang di Propinsi Bengkulu telah terinfeksi *Fusarium oxysporum* (Apriyanto, dkk., 2004). Penyakit ini menyerang tanaman pisang yang mengakibatkan tanaman mati sebelum berbuah. Serangan patogen ini mengakibatkan berkurangnya mutu dan produksi pisang (Djajati dkk., 1998). Menurut Kolina dkk. (1997), penyakit ini sukar dikendalikan, dimana sasaran serangan pada bagian yang sangat penting dalam pertumbuhan tanaman, yaitu umbi dan akar.

Permasalahan utama yang dihadapi dalam budidaya tanaman pisang Ambon Curup ini adalah karena kurang tersedianya bibit sehat (Anonim, 2001). Umumnya tanaman pisang diperbanyak dengan cara vegetatif dengan menggunakan anakan (*sucker*), atau bonggol (*corm*) (Roedyarto, 1997). Perbanyakan dengan cara ini memerlukan waktu yang lama (1-1,5 tahun) untuk mendapatkan 1-10 anakan. Selain itu perbanyakan secara vegetatif ini menyebabkan tanaman mudah terinfeksi penyakit, seperti penyakit layu *Fusarium* (Semangun, 1991).

Alternatif usaha untuk mengatasi masalah penyediaan bibit pisang 'Ambon Curup' bermutu dapat dilakukan dengan perbanyakan tanaman dengan cara kultur jaringan (*in vitro*). Seleksi terhadap bahan awal ataupun eksplan untuk mikropropagasi serta perlakuan selama mikropropagasi yang senantiasa dalam kondisi aseptik akan memperoleh tanaman yang bebas patogen dan akan mengurangi peluang berkembangnya penyakit. Penyediaan bibit dengan teknik kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman yang seragam, baik dari bentuk maupun umur tanaman, juga dapat dihasilkan bibit yang bebas patogen (George dan Sherrington, 1984). Hasil penelitian Marlin, dkk. (2004) menunjukkan peningkatan produksi benih jahe bebas *Pseudomonas solanacearum*. Pada penelitian tersebut diketahui 98% hasil uji mikroskopis terhadap cairan rimpang jahe hasil kultur bebas dari *P. solanacearum*. Selain itu, penyediaan bibit dengan teknik kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman yang seragam, baik dari bentuk maupun umur tanaman, juga dapat dihasilkan bibit yang bebas patogen (George dan Sherrington, 1984). Perbanyakan dengan teknik kultur jaringan biasanya dilakukan dengan menginisiasi pembentukan tunas dan akar *in vitro* dari jaringan meristem pada bagian

vegetatif tanaman. Dengan teknik ini kemungkinan terjadi abrasi genetik sangat kecil, sehingga secara genetik tanaman yang dihasilkan adalah seragam (Gunawan, 1988).

Dalam kultur jaringan, media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman. Komponen media yang sangat penting adalah hara makro dan hara mikro. Hara makro merupakan hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang banyak. Hara makro yang sangat penting dalam kultur jaringan yaitu nitrogen (N) (Yusnita, 2003). Nitrogen didalam jaringan tanaman berfungsi sebagai pembentuk protein dan penyusun klorofil tanaman. Menurut Wetter dan Contabel (1982) salah satu bentuk unsur nitrogen yang diberikan dalam media kultur jaringan yaitu ammonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ).

Penelitian Sartika (2002) menyatakan bahwa pemberian  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  825 mg/L memberikan pengaruh terbaik pada multiplikasi tunas jahe. Agnestiana (2004) menyatakan kombinasi  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  2475 mg/L dengan glukosa 30 g/L menghasilkan tunas tertinggi, jumlah akar terbanyak, mempercepat waktu eksplan membentuk tunas, mempercepat eksplan membentuk daun dan meningkatkan jumlah daun eksplan pisang ambon curup.

Selain unsur hara, keberhasilan kultur jaringan juga dipengaruhi oleh faktor zat pengatur tumbuh (ZPT) yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. ZPT merupakan faktor penting yang mempengaruhi diferensiasi organ tanaman dalam kultur *in vitro* (Wattimena, 1992). Jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media *in vitro* sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan tanaman (Yusnita, 2003). Penggunaan ZPT ini untuk menginisiasi pembentukan organ secara *in vitro*. Pembentukan organ tanaman merupakan tahap pertumbuhan dan

perkembangan eksplan secara *in vitro*. Organ yang diharapkan dari perkembangan *in vitro* adalah tunas. Untuk pertumbuhan tunas diberikan sitokinin (Hartman, *et al.*, 1990). Golongan sitokinin sintetik yang sering digunakan diantaranya adalah *Benzil amino purine* (BAP) dan kinetin (Wattimena, 1992). BAP aktif dalam memacu pembentukan tunas lebih aktif dari pada kinetin dan 2-iP (Bhojawani dan Razdan, 1983), serta untuk penggandaan tunas (George & Sheringthon, 1984).

Penelitian Marlin (2005) menunjukkan bahwa jumlah tunas tertinggi jahe gajah diperoleh pada media MS dengan penambahan 4 ppm BAP dan NAA 3 ppm, jumlah akar tertinggi pada media dengan penambahan BAP 3, 58 ppm dan NAA 5 ppm. Sumarnik (2000) mengatakan bahwa tunas pisang ambon curup terbentuk pada 0,01 ppm NAA dan 2 ppm BAP. Tahun 2004 Avivi menyatakan bahwa jumlah tunas dan tinggi tunas pisang abaca terbaik diperoleh pada pemberian 6 ppm BAP.

Kinetin adalah senyawa yang memiliki unsur nitrogen, derivat atau turunan adenin yang mengandung gugus *furfuryl* yang aktif dalam pembelahan sel. Kinetin efektif dalam mendorong pembelahan sel pada jaringan (Noggle dan Fritz. 1996 *dalam* Hutagalung 1993). Menurut Zuyasna *dkk* (1998), hasil yang diperoleh dari perbanyakan tunas umbi kentang secara *in vitro* dengan pemberian 0,4 ppm IAA dan 4 ppm kinetin menghasilkan tunas terbanyak yaitu 3 tunas, sedangkan tinggi tunas terpanjang yaitu 10,36 cm dan berat tunas tertinggi yaitu 0,2789 g. Hal ini disebabkan penambahan ZPT IAA dan kinetin dapat memicu aktivitas hormon endogen yang ada dalam eksplan mata tunas sehingga mengakibatkan terbentuknya tunas.

Jenis ZPT lain yang seringkali ditambahkan adalah auksin, salah satunya adalah *indole butiric acid* (IBA). IBA merupakan auksin sintetik yang berpotensi tinggi dalam

memacu pertumbuhan eksplan, karena konsentrasi IBA berdaya guna dalam merangsang inisiasi kalus dan akar cukup lebar. Kombinasi konsentrasi IBA 1,5 ppm dan kinetin 3,5 ppm lebih efektif meningkatkan persentase pertumbuhan eksplan krisan yang hidup. Sedangkan kombinasi 3,5 ppm IBA dan 1,5 ppm kinetin lebih efektif meningkatkan persentase pertumbuhan eksplan krisan yang membentuk kalus (Hutagalung, 1993). Selanjutnya hasil penelitian Triatminingsih *dkk* (2001) menunjukkan bahwa perlakuan larutan IBA 10 – 20 ppm yang diinkubasi dalam gelap selama 14 hari memberikan persentase perakaran plantlet manggis yang terbaik dengan jumlah akar terbanyak 2,40 helai.

Selain itu, salah satu komponen utama yang diperlukan dalam kultur *in vitro* ini adalah gula (sukrosa). Adanya suplai sukrosa dalam media maka dapat memacu diferensiasi dan perkembangan akar (Warreing dan Phillips, 1981). Oleh sebab itu penambahan gula mutlak diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan eksplan secara *in vitro*. Hasil-hasil penelitian *in vitro* menunjukkan kebutuhan sukrosa yang berbeda untuk setiap jenis tanaman dan jenis kultur. Menurut Wilson *et al.* (1998) penambahan 2% sukrosa pada medium dapat meningkatkan berat kering dan luas daun serta dapat memelihara kualitas bibit selama masa penyimpanan.

Keberhasilan teknik *in vitro* ini masih harus dibuktikan lagi dengan adanya keberhasilan hasil kultur untuk dapat beradaptasi dengan lingkungan *in vivo*. Kendala utama sulitnya menumbuhkan hasil kultur di lapangan dapat diatasi dengan perlakuan penguatan (*hardening*) dan aklimatisasi. Dengan perlakuan *hardening* dilakukan penguatan terhadap perakaran tanaman dan peningkatan jumlah tunas sehingga memungkinkan tanaman akan bisa cepat beradaptasi dan tumbuh secara normal di

lapangan. Perlakuan yang kurang tepat selama tahap ini menyebabkan terbentuknya organ tanaman yang abnormal. Adanya kelembaban yang tinggi dalam media kultur seringkali mengakibatkan terbentuknya akar-akar palsu (*glassy root*) yang bila dipindahkan ke lapangan mudah busuk dan tidak mampu bertahan.

Dengan melihat permasalahan dalam budidaya pisang Ambon Curup ini, diperlukan upaya untuk dapat meningkatkan produksi bibit pisang Ambon Curup sehat bebas dari infeksi *F. oxysporum*. Melalui penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan suatu teknik baru dalam penyediaan bibit pisang yang seragam, dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu yang relatif singkat. Dengan demikian dapat mengatasi masalah perbenihan pisang di Propinsi Bengkulu khususnya, serta menjadi upaya penyelamatan dan pelestarian pisang Ambon Curup sebagai salah satu keragaman hayati unggulan di Propinsi Bengkulu.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

Pisang (*Musa spp.*) merupakan tanaman asli Asia tenggara yang sudah tersebar luas di dunia. Tanaman pisang mempunyai batang sejati yang terletak di bawah permukaan tanah yang disebut dengan bonggol (*corm*). Tanaman pisang tumbuh setinggi 2-9 m di atas permukaan tanah. Bagian yang menyerupai batang sesungguhnya adalah sekumpulan seludang daun (*leaf sheat*) yang tersusun rapat memanjang seperti silinder. Tanaman pisang bersifat monocarpik, karena tanaman hanya berbuah satu kali, setelah itu mati (Sunarjono, 2002).

Menurut pengamatan Mukhtasar (2003), di Bengkulu terdapat 5 kultivar pisang yang disebut dengan nama 'pisang Ambon', yaitu pisang Ambon Badak, pisang Ambon Curup, pisang Ambon hijau, pisang Ambon Jepang, dan pisang Ambon Kuning. Produksi pisang ini khusus untuk Kabupaten Rejang Lebong pada tahun 1996 mencapai 62.6121 kw. Tahun 1998 menurun menjadi 27.893 kw. Tahun 1999 meningkat kembali menjadi 42.754 kw. Namun sejak tahun 2000 produksi ini terus mengalami penurunan. Produksi pisang tahun 2000 mencapai 39.664 kw dan tahun 2001 hanya 20.366 kw (Anonim, 2001). Rendahnya produksi yang dihasilkan tersebut terutama disebabkan oleh adanya serangan cendawan *Fusarium oxysporum* yang menyebabkan penyakit layu (Apriyanto, dkk., 2004). Penyakit ini merupakan penyakit tular tanah yang menyerang akar, mengganggu pengangkutan air dan hara, sehingga tanaman menjadi layu, daun menguning, dan kemudian mati (Semangun, 1991).

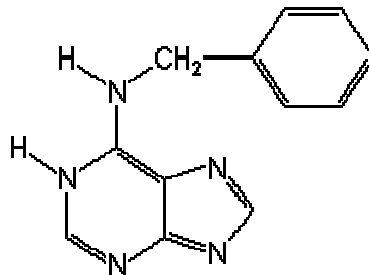
Peningkatan produksi pisang 'Ambon Curup di propinsi Bengkulu dilakukan melalui usaha intensifikasi dan ekstensifikasi pertanian. Namun demikian, upaya

penyediaan bibit pisang Ambon Curup bermutu seringkali mengalami hambatan. Melalui perbanyakan tanaman secara *in vitro* akan dapat mengatasi masalah pengadaan jahe bibit sehat dan bebas penyakit layu bakteri (Marlin, 2005). Dengan penggunaan teknik *in vitro* bahan tanam yang dihasilkan akan mempunyai tingkat multiplikasi yang tinggi, materi tanaman yang berkualitas, lebih homogen, secara genetik sama dengan induknya, dapat diperoleh dalam waktu yang relatif singkat (Bhojwani, 1990).

Keberhasilan perbanyakan secara *in vitro* ditentukan oleh keberhasilan pada tahap pemilihan eksplan, inisiasi, penggandaan, pengakaran *hardening* dan aklimatisasi, masing-masing tahap tersebut memerlukan kondisi dan media yang khusus. Keberhasilan dalam teknik *in vitro* juga harus memperhatikan kebutuhan hara. Hara yang diberikan yaitu garam mineral berupa ammonium nitrat (Wetter dan Contabel, 1982). Amonium nitrat merupakan bentuk nitrogen yang sering diberikan dalam media kultur jaringan. Nitrogen sendiri adalah unsur hara esensial bagi tanaman. Penyerapan nitrogen oleh tanaman umumnya dalam bentuk ion amoniumnitrat ( $\text{NH}_4^+$ ) dan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) (Wattimena, 1992).

Hasil penelitian Malini (2003) menunjukkan bahwa pemberian nitrogen dalam bentuk ammonium nitrat sebanyak 825 mg/L meningkatkan jumlah tunas pisang abaca, sedangkan hasil penelitian Marta (2003) bahwa pemberian ammonium nitrat seanyak 1650 mg/ L dapat meningkatkan jumlah daun dan tinggi tunas peppermint secara *in vitro*. Pemberian ammonium nitrat sebesar 2475 mg/L memberikan jumlah akar terbanyak, hasil tunas tertinggi, dan meningkatkan berat basah pisang ambon curup secara kultur jaringan (Agnestiana, 2004)

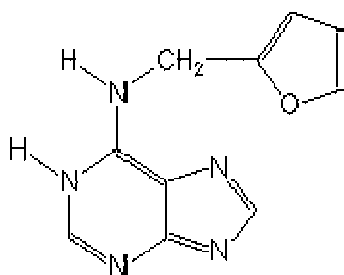
Menurut Warreing dan Phillips (1981), kebutuhan nutrisi dan zat pengatur tumbuh untuk memacu proses pembentukan organ pada kultur *in vitro* akan berbeda untuk setiap jenis tanaman dan eksplan yang digunakan. Untuk stimulasi proses morfogenesis ini sangat dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh dan komponen-komponen penyusun media (Krikorian, 1982 dan Ammirato, 1986). Dengan adanya pemberian auksin dan sitokinin sangat mempengaruhi proses pembelahan sel (Skoog dan Miller, 1957). Pemberian auksin yang dikombinasikan dengan pemberian sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi (1 : 10) memacu pertumbuhan dan proliferasi tunas, walaupun tunas yang terbentuk cenderung pendek, tebal dan multiplikasi rendah (Ma *et al.*, 1994).



Gambar 1. Rumus bangun *Benzyl Amino Purine* (BAP)

Sitokinin yang pertama ditemukan adalah kinetin yang diisolasi oleh Prof. Skoog dalam Laboratorium Botany di University of Wisconsin. Kinetin diperoleh dari DNA ikan herring yang diautoklaf dalam larutan yang asam. Persenyawaan dari DNA tersebut sewaktu ditambahkan ke dalam media untuk tembakau, ternyata merangsang pembelahan dan diferensiasi sel. Persenyawaan tersebut kemudian dinamakan kinetin (Gunawan, 1987). Hasil penelitian Nirmala (2003) dengan perlakuan 0,5 ppm NAA yang dikombinasikan dengan 0,3 ppm kinetin dapat menghasilkan berat kalus tertinggi yaitu

0,869 g/kalus dan menghasilkan jumlah akar terbanyak yaitu 12,20 helai/kalus. Selanjutnya pada penelitian Zuyasna (1998) menunjukkan bahwa dengan pemberian 0,4 ppm IAA dan 4 ppm kinetin menghasilkan tunas terbanyak yaitu 3 tunas, pertumbuhan tunas terpanjang yaitu 10,36 cm dan berat tunas tertinggi yaitu 0,2789 g. Kinetin mengandung gugus furfuryl yang aktif dalam pembelahan sel. Kinetin juga efektif dalam mendorong pembelahan sel pada jaringan kalus batang tembakau (Wattimena, 1992; Gunawan, 1987).

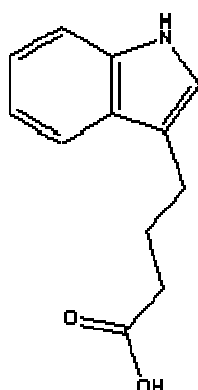


Gambar 2. Rumus bangun Kinetin

Asam indole butirat atau IBA merupakan jenis auksin sintetis yang memiliki potensial biologi tinggi dalam mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman, berperan dalam pertumbuhan akar, inisiasi kalus, pemanjangan sel, dan mendorong tunas terminal. IBA adalah suatu senyawa yang memiliki susunan cincin yang mengandung ikatan rangkap sebagai inti. Pada cincin terdapat rangkaian yang mengandung gugus karboksil. Senyawa ini terbukti aktif dan dipergunakan sebagai hormon sintetis perakaran (Hutagalung, 1993).

Dari hasil penelitian Hutagalung (1993) didapat kombinasi konsentrasi 1,5 ppm IBA yang dikombinasikan dengan 3,5 ppm kinetin dapat meningkatkan persentase eksplan krisan yang hidup, sedangkan pada konsentrasi 3,5 ppm IBA dan 1,5 ppm kinetin

dapat meningkatkan persentase eksplan krisan membentuk kalus. Sedangkan dari hasil penelitian Triatminingsih *dkk* (2001) untuk mendapatkan pengakaran plantlet manggis yang terbaik didapatlah perlakuan 10 ppm dan 20 ppm IBA yang di inkubasi dalam gelap selama 14 hari sehingga memberikan persentase perakaran yang terbaik yaitu 83,5 % dan jumlah akar terbanyak 2,40 helai.



Gambar 3. Rumus bangun *indole butiric acid* (IBA)

Penambahan berbagai elemen makro dan mikro serta vitamin dalam media sebagai sumber nutrisi eksplan sangat mempengaruhi proses morfogenesisnya. Penambahan gula (sukrosa) dalam media kultur sangat menentukan pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Adanya suplai sukrosa dalam media maka dapat memacu diferensiasi dan perkembangan akar (Wareing dan Phillips, 1981). Hasil-hasil penelitian *in vitro* menunjukkan kebutuhan sukrosa yang berbeda untuk setiap jenis tanaman dan jenis kultur. Menurut Wilson *et al.* (1998) penambahan 2% sukrosa pada medium dapat meningkatkan berat kering dan luas daun serta dapat memelihara kualitas bibit selama masa penyimpanan. Nagakubo *et al.* (1993) menambahkan 6-12% sukrosa untuk menginisiasi pembentukan umbi bawang putih *in vitro*. Proses diferensiasi secara *in vitro*

sangat bergantung pada suplai sukrosa dalam media (Moncousin, 1991). Sukrosa yang digunakan dalam media kultur jaringan adalah gula pasir, karena gula pasir mengandung 99,4 % sukrosa, serta tidak mengindikasikan adanya racun secara *in vitro* (Pierik, 1978). Menurut Widiastuty dan Bahar (1995) sukrosa dalam kultur jaringan juga berfungsi sebagai bahan pembentuk sel-sel baru, juga sebagai sumber energi dan menjaga keseimbangan tekanan osmotik sel (George dan Sherrington, 1984).

Dalam proses respirasi, gula diubah menjadi bahan-bahan struktural, metabolik, energi translokasi dan transpor nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dengan adanya suplai dalam media maka dapat memacu differensiasi dan perkembangan akar. Menurut Sriyanti dan Wijayani, (1994) *dalam* Herawati (2000) sukrosa dengan konsentrasi 2% sampai 5% merupakan sumber karbon dan penggunaan sukrosa diatas 3% menyebabkan terjadinya pembelahan dinding sel.

Berdasarkan penelitian Srilestari (2005) pada embrio somatik kacang tanah, bahwa semua kombinasi perlakuan macam vitamin dan sukrosa, semua eksplan dapat menghasilkan embrio. Menurut Winata (1988) *dalam* Srilestari (2005) konsentrasi optimum sukrosa yang dapat memacu perkembangan embrio dan kultur pucuk antara 2%-4%, namun dalam embriogenesis somatik kacang tanah konsentrasi gula dapat mencapai 6%. Lebih tegas dikatakan Eapen dan George (1993) *dalam* Srilestari (2005), bahwa sukrosa adalah yang paling baik kemudian diikuti oleh fruktosa, glukosa, dan maltosa. Glukosa dan fruktosa sebagai hasil hidrolisis sukrosa dapat merangsang pertumbuhan beberapa jaringan.

Keberhasilan meregenerasi planlet *in vitro* ini, akan semakin tampak bila ternyata plantlet tersebut mampu beradaptasi dan *survive* dalam lingkungan luar yang alami

(Conover and Poole, 1984). Mampunya plantlet beradaptasi sangat ditentukan dengan proses *hardening* yang diberikan terhadap tanaman. Tahap *hardening* ini merupakan tahap penguatan terhadap tunas dan akar yang terbentuk. Perlakuan yang kurang tepat selama tahap ini menyebabkan terbentuknya organ tanaman yang abnormal. Disamping itu kelembaban yang tinggi dalam media padat seringkali mengakibatkan terbentuknya akar-akar palsu yang bila dipindahkan ke lapangan mudah busuk dan tidak mampu bertahan. Pada tahap ini umumnya dilakukan peningkatan jumlah dan kualitas akar.

Aklimatisasi merupakan proses dimana tanaman dapat beradaptasi pada perubahan lingkungan (Ziv, 1986). Kelembaban yang tinggi dalam botol kultur menyebabkan berkurangnya kandungan lilin pada kultikula yang selanjutnya dapat mengakibatkan proses kehilangan air yang cepat dari tanaman (Torres, 1989). Dengan demikian tahap aklimatisasi merupakan tahap yang penting dan menentukan keberhasilan teknik *in vitro* karena plantlet *in vitro* tidak dapat beradaptasi langsung dengan kondisi *in vivo*.

### **Hasil yang Sudah Dicapai dan Studi Pendahuluan yang Sudah Dilaksanakan**

Mukhtasar (1999) berhasil menginventarisir jenis-jenis pisang yang terdapat di Propinsi Bengkulu. Pada penelitian tersebut diketahui terdapat 20 jenis pisang meja terdapat di Bengkulu, dan terdapat 5 jenis pisang Ambon, dan yang paling dikenal adalah pisang Ambon Curup. Selanjutnya Mukhtasar (2003) melaporkan bahwa pisang Ambon Curup memiliki cirri yang berbeda dengan jenis pisang Ambon lainnya, yaitu adanya sudut buah yang jelas, mirip dengan pisang kapok (*Musa* ; ABB). Selain itu juga memiliki karakter yang berasal dari genom *M. balbisiana* (B). Pisang Ambon Curup

merupakan jenis pisang yang hanya terdapat di Kabupaten Rejang Lebong Propinsi Bengkulu.

Penelitian untuk menumbuhkan bit pisang Ambon Curup dilaporkan Mukhtasar (2004). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan asam salisilat mampu meningkatkan pertumbuhan bit dengan konsentrasi optimum 124,48 - 211,58  $\mu\text{M}$ , lama perendaman 30 menit.

Hasil penelitian terhadap perbanyakan tanaman pisang Ambon Curup melalui teknik *in vitro* telah dilakukan melalui Program Kreativitas Mahasiswa (Marlin, *dkk.* 2005). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  2475 mg/L mampu mempercepat waktu eksplan membentuk tunas (15 hst) dan meningkatkan jumlah daun (1,74 daun/eksplan). Selanjutnya dijelaskan bahwa dikombinasikan antara pemberian  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  2475 g/L dengan sukrosa 30 g/L mampu menghasilkan tunas tertinggi (6,8 cm), akar (60,3 akar/eksplan), panjang akar (12,4 cm), dan berat basah total (74,6 g). Sedangkan rerata jumlah tunas yang terbentuk 1-3,6 tunas/eksplan.

Hasil penelitian Damayanti (2004) menunjukkan bahwa pemberian sukrosa dan BAP dapat mendukung multiplikasi tunas mikro pisang Ambon Curup. Walaupun pada penelitian ini belum dicapai konsentrasi optimum sukrosa dan BAP. Pemberian sukrosa 30 g/L merupakan konsentrasi terbaik untuk pertumbuhan dan perkembangan tunas pisang Ambon Curup *in vitro*. Pemberian BAP dengan konsentrasi 0-2,33 ppm, mampu menstimulasi pertumbuhan akar, namun multiplikasi tunas yang diperoleh masih sedikit (0,78-2,78 tunas/eksplan).

Selanjutnya hasil penelitian Hakim (2005) pada pertumbuhan eksplan menunjukkan bahwa pemberian 6 ppm kinetin tanpa IBA menghasilkan saat terbentuk tunas tercepat



(2,67 hst), saat terbentuk akar (5 hst), berat basah total (7,73 g) dan tinggi tunas (20,8 cm). Pemberian kinetin tanpa IBA menghasilkan panjang akar (29,13 cm), dan jumlah tunas tertinggi (2,22 tunas/eksplan).

Kerjasama antara Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan KAbupaten Rejang Lebong dan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu berhasil melakukan survey dan penelitian terhadap kesesuaian lahan, pohon induk yang bebas hama dan penyakit, dan pemurnian varitas, serta perbanyak tanaman melalui kultur jaringan (Apriyanto, *dkk.* 2004)

Kemajuan penelitian pada tanaman jahe secara *in vitro* yang telah dilakukan, dapat memberikan acuan dalam mengembang perbanyak tanaman pisang Ambon Curup secara *in vitro*. Hasil penelitian Marlin *dkk.* (2000) menunjukkan bahwa penambahan 6% sukrosa dan 0.8% agar akan membentuk 5 tunas/eksplan jahe dalam 8 minggu kultur. Pembentukan jumlah tunas semakin meningkat dengan semakin lamanya kultur yaitu dengan terbentuknya 40 tunas/eksplan dalam 24 minggu kultur. Selanjutnya hasil penelitian pada media cair menunjukkan adanya peningkatan proliferasi tunas dalam media cair, namun demikian tunas yang terbentuk cenderung tumbuh abnormal. Penempatan kultur cair pada penggojok (shaker) dengan kecepatan 100 rpm dapat mengurangi pembentukan tunas yang tidak normal (Marlin, 2000).

Pembentukan rimpang mikro jahe dapat distimulasi dengan pemberian sukrosa 3-6% dengan pemberian BAP sampai dengan 5 ppm. Perlakuan dengan sukrosa 6% dan BAP 5 ppm mampu membentuk rimpang dalam 20 hari kultur dengan berat basah rimpang tertinggi sebesar 1.2 g/rimpang. Namun demikian, rerata rimpang terpanjang didapat pada media dengan penambahan 3% sukrosa dan 5 ppm BAP (Marlin, 2002).

Hasil penelitian Marlin, *dkk.* (2003) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah tunas jahe yang signifikan selama kultur. Pada tahap pertama kultur jumlah tunas dan akar tertinggi diperoleh sebesar 6,5 tunas/eksplan dan 40,99 akar/eksplan (10 minggu kultur). Sedangkan pada tahap *hardening* diperoleh 24 tunas/eksplan dan 60 akar/eksplan (8 minggu kultur). Persentase rimpang mikro masih terinfeksi oleh bakteri *P. Solanacearum* hanya 2% dari semua sample tanaman yang diuji.

Hasil penelitian Marlin, *dkk.* (2004) menunjukkan bahwa komposisi media tanah : vermikompos : pasir = 2 : 1 : 1, dan tanah : vermikompos : pasir = 1 : 2 : 1 merupakan media terbaik untuk aklimatisasi planlet jahe gajah. Penambahan pupuk pelengkap cair tidak dapat meningkatkan pertumbuhan planlet jahe. Pemberian 12 macam jamur pelarut fosfat dapat meningkatkan batang semu (7,7 batang/rumpun) dan kandungan klorofil (37,4741). Terdapat 10 jenis jamur pelarut fosfat mampu mengeliminasi intensitas serangan bakteri *P. solanacearum*. Sedangkan 2 jenis jamur lainnya, mampu mengurangi intensitas serangan 70-90%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *P. solanacearum* yang berasal dari Kabupaten Kepahiang memberikan respon pertumbuhan yang tertinggi. Tiga isolat yang mampu menginfeksi rimpang mikro jahe yang diaklimatisasi, dengan persentase infeksi 10-20%. Sedangkan tanaman jahe yang ditanam secara konvensional menunjukkan gejala infeksi bakteri *P. Solanacearum* hingga 60%.

Berdasarkan hal tersebut, maka sangat penting dilakukan penelitian untuk dapat menghasilkan planlet pisang Ambon Curup sebagai upaya penyediaan bibit sehat yang selanjutnya dapat tumbuh dan berproduksi tinggi di lapang. Melalui penelitian ini diharapkan akan menjadi *scientific frontier* yang mampu memberikan kontribusi bagi

penyediaan bibit pisang sehat dengan pembentukan planlet secara *in vitro* yang selanjutnya dapat mendukung kebijaksanaan perbenihan daerah Bengkulu khususnya, serta dalam upaya penyelamatan dan pelestarian pisang ambon Curup sebagai salah satu keanekaragaman hayati yang ada di Propinsi Bengkulu.

## BAB III

### TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

#### 3.1 Tujuan Penelitian

1. Menghasilkan planlet pisang ambon curup dengan tingkat multiplikasi yang tinggi
2. Menghasilkan planlet pisang ambon curup hasil *hardening in vitro* yang siap diaklimatisasi.
3. Dapat mengaklimatisasi planlet hasil kultur *in vitro* pada media compot

#### 3.2 Manfaat Penelitian

Keberhasilan pembangunan sektor pertanian tidak hanya ditinjau dari peningkatan produksi tanaman pangan perkebunan, tetapi juga peningkatan produksi tanaman hortikultura seperti pisang. Pisang Ambon Curup merupakan kultivar lokal yang mempunyai potensi untuk dikembangkan di Propinsi Bengkulu. Hasil survei dan penelitian yang dilakukan Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan bekerjasama dengan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu, merekomendasikan pisang Ambon Curup sebagai komoditas unggulan di Kabupaten Rejang Lebong (Apriyanto, *dkk.*, 2004). Usaha pengembangan tanaman pisang Ambon Curup di Propinsi Bengkulu dilakukan melalui perbaikan teknik budidaya dan perluasan areal pertanaman. Penyediaan bibit unggul yang bebas dari serangan *F. oxysporum* merupakan kendala yang dihadapi mengingat 76% lahan pertanaman pisang di Bengkulu terserang *F. oxysporum*. Upaya penyelamatan tanaman pisang Ambon Curup dari serangan penyakit layu *Fusarium* ini sangat penting dilakukan agar terhindar dari kepunahan.

Hal ini sejalan pula dengan payung penelitian Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu yang menempatkan tanaman pisang sebagai salah satu komoditas unggulan penelitian. Diharapkan melalui penelitian ini, dapat mengatasi kendala penyediaan bibit pisang bermutu dan bebas penyakit layu. Melalui penelitian ini diharapkan akan menjadi *scientific frontier* yang mampu memberikan kontribusi bagi penyediaan bibit pisang dalam bentuk planlet bebas penyakit layu *Fusarium* yang selanjutnya dapat mendukung kebijaksanaan perbenihan di daerah Bengkulu khususnya dan perbenihan nasional umumnya. Disamping itu, kegiatan pelaksanaan penelitian dapat mempercepat penyelesaian tugas akhir mahasiswa Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi. Dengan penelitian ini mahasiswa akan lebih mampu mengaplikasikan teori-teori yang mereka dapatkan melalui perkuliahan dan lebih meningkatkan ketrampilan dan mengembangkan daya nalar mereka terhadap pemecahan suatu masalah.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

Kegiatan Penelitian pada tahun Kedua ini terdiri dari 3 tahap penelitian. Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumah Kasa di Laboratorium Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Maret sampai dengan bulan Oktober 2008.

#### ***I. Multiplikasi Tunas in vitro***

##### **a. Bahan Tanam**

Penelitian dilakukan dengan menggunakan bahan tanam yang berasal dari kultur sebelumnya, yang berupa tunas mikro pisang ambon curup, yang dihasilkan melalui organogenesis langsung ataupun yang melalui pembentukan kalus embriogenik. Tunas dikulturkan secara individual pada media multiplikasi tunas sesuai perlakuan.

##### **b. Media Kultur**

Media kultur yang digunakan adalah Media Murashige dan Skoog (1962). Media ditambahkan 8 g/L agar, dan 2 ppm calsium panthotenat. pH media ditetapkan menjadi 5,8. Masing-masing botol kultur berisi 20 ml media sesuai perlakuan.

##### **c. Perlakuan**

Perlakuan yang diberikan ke dalam media multiplikasi tunas ini merupakan kombinasi dari dua faktor perlakuan yang disusun dengan rancangan acak lengkap

(RAL). Faktor pertama adalah pemberian ammonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) yang terdiri dari 4 taraf perlakuan, yaitu tanpa  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $\text{N}_0$ ), 825 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $\text{N}_1$ ), 1650 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $\text{N}_2$ ), dan 2475 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $\text{N}_3$ ). Faktor kedua adalah pemberian Kinetin yang terdiri dari 4 taraf perlakuan, yaitu tanpa Kinetin ( $\text{K}_0$ ), 2 mg/L Kinetin ( $\text{K}_1$ ), 4 mg/L Kinetin ( $\text{K}_2$ ), dan 6 mg/L Kinetin ( $\text{K}_3$ ).

Setiap perlakuan dilakukan dengan 3 ulangan. Tanaman selanjutnya dipelihara dalam ruang kultur dengan suhu 22 °C dan 16 jam penyinaran.

#### d. Variabel Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan yang dilakukan meliputi persentase pembentukan tunas, persentase pembentukan planlet, saat pembentukan tunas, jumlah tunas/eksplan, jumlah akar/eksplan, tinggi tanaman.

Data hasil pengamatan selanjutnya dianalisis dengan analisis keragaman pada taraf 5%. Bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji *orthogonal polynomial* untuk mendapatkan konsentrasi optimum dari pemberian  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dan kinetin serta interaksi antara kedua perlakuan.

## ***II. Multiplikasi Tunas in vitro (II)***

### **a. Bahan Tanam**

Penelitian dilakukan dengan menggunakan bahan tanam yang berasal dari kultur sebelumnya, yang berupa tunas mikro pisang ambon curup, yang dihasilkan melalui organogenesis langsung ataupun yang melalui pembentukan kalus embriogenik. Tunas dikulturkan secara individual pada media multiplikasi tunas sesuai perlakuan.

#### b. Perlakuan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) secara faktorial dengan dua (2) faktor. Faktor pertama konsentrasi kinetin (K) terdiri dari 4 taraf, yaitu :  $K_0 = 0$  ppm,  $K_1 = 3$  ppm,  $K_2 = 6$  ppm dan  $K_3 = 9$  ppm. Dan faktor kedua konsentrasi *Indole Butyric Acid* (IBA) (B) terdiri dari 4 taraf yaitu  $B_0 = 0$  ppm,  $B_1 = 1,0$  ppm,  $B_2 = 2,0$  ppm, dan  $B_3 = 3,0$  ppm. Dari dua faktor tersebut didapat 16 kombinasi perlakuan, dalam setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

#### c. Variabel pengamatan dan analisa data

Peubah yang diamati dalam penelitian ini meliputi saat tumbuh tunas, jumlah tunas (tunas/eksplan), tinggi tunas (cm), berat basah total tanaman (g), saat terbentuk akar (hst), jumlah akar (helai/eksplan), panjang akar (cm), berat basah akar (g), saat terbentuk daun (hst), jumlah daun (helai/eksplan).

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan uji F pada taraf nyata 5 %. Karena tidak terdapat perbedaan yang nyata maka dibahas secara deskriptif dengan menggunakan nilai rata-rata pengamatan.

### ***III. Hardening in vitro***

#### a. Bahan Tanam

Penelitian dilakukan dengan menggunakan bahan tanam berupa planlet yang dihasilkan melalui tahap multiplikasi tunas. Masing-masing planlet dikulturkan secara individual. Bagian akar dipotong hingga tersisa 1 mm. Daun yang terbentuk juga



dipangkas, dan hanya menyisakan daun teratas yang berupa kuncup 2 mm. Eksplan selanjutnya ditanamkan pada media *hardening* sesuai perlakuan.

#### b. Media Kultur

Media yang digunakan adalah media MS dengan penambahan 8 g/L agar, 3 ppm kinetin dan 1 ppm NAA. pH media ditetapkan menjadi 5,8. Masing-masing botol kultur berisi 20 ml media sesuai perlakuan.

#### c. Perlakuan

Perlakuan yang diberikan ke dalam media *hardening* ini merupakan kombinasi dari dua faktor perlakuan yang disusun dengan rancangan acak lengkap (RAL).

Faktor pertama adalah pemberian sukrosa yang terdiri dari 4 taraf perlakuan, yaitu 30 g/L sukrosa ( $S_1$ ), 60 g/L ( $S_2$ ), 90 g/L ( $S_3$ ) dan 120 g/L sukrosa ( $S_4$ ). Faktor kedua adalah pemberian arang aktif yang terdiri dari 5 taraf perlakuan, yaitu tanpa arang aktif ( $A_0$ ), 1 g/L arang aktif ( $A_1$ ), 2 g/L arang aktif ( $A_2$ ), 3 g/L arang aktif ( $A_3$ ), dan 4 g/L arang aktif ( $A_4$ ). Setiap perlakuan dilakukan dengan 5 ulangan. Tanaman selanjutnya dipelihara dalam ruang kultur dengan suhu 22 °C dan 16 jam penyinaran.

#### d. Variabel Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan yang dilakukan meliputi persentase hidup planlet, saat pembentukan tunas, jumlah tunas/eksplan, jumlah akar/eksplan, dan tinggi tanaman.

Data hasil pengamatan selanjutnya dianalisis dengan analisis keragaman pada taraf 5%.

Bila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji *orthogonal polynomial*

untuk mendapatkan konsentrasi optimum dari pemberian sukrosa dan arang aktif serta interaksi antara kedua perlakuan.

#### ***IV. Aklimatisasi pada Compot (community pot).***

##### **a. Bahan Tanam dan Sterilisasi**

Penelitian dilakukan dengan menggunakan bahan tanam (inokulum) yang berupa planlet pisang Ambon Curup bebas penyakit hasil kultur sebelumnya. Planlet dibersihkan dari media agar dengan menggunakan air yang mengalir. Akar yang panjang diipotong sebagian, hingga menyisakan panjang akar 2-3 cm. Planlet selanjutnya direndam dalam larutan fungisida 1 g/L dan bakterisida 1 g/L selama 1 menit, dan larutan auksin 2 g/L selama 1 menit, dan dikering anginkan. Kemudian planlet ditanamkan pada media compot sesuai perlakuan.

##### **b. Perlakuan**

Perlakuan yang diberikan merupakan komposisi media compot. Perlakuan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 ulangan. Komposisi media compot yang diberikan adalah tanah (M1), tanah : pukan + *T. harzianum* (M2) dan media pukan + *T. harzianum* (M3). Media dimasukkan dalam pot plastik dengan ukuran diameter 30 cm, masing-masing berisi 5 kg media.

Planlet yang sudah dibersihkan dan direndam dalam larutan fungisida segera ditanamkan ke dalam media tanam. Masing-masing pot berisi 4 planlet. Setelah masing-masing planlet ditanamkan, pot segera ditutup dengan sungkup plastik transparan. Selanjutnya, pot-pot diletakkan dan dipelihara dalam screenhouse dengan intensitas

naungan 65 %. Penyiraman dilakukan setiap hari dengan cara menyemprotkan air dengan menggunakan *handspayer*. Setelah 5 hari, tutup plastik dibuka dengan hati-hati. Pemupukan dilakukan lewat daun dengan konsentrasi 1 g/L dan dilakukan 1 kali seminggu.

c. Variabel Pengamatan

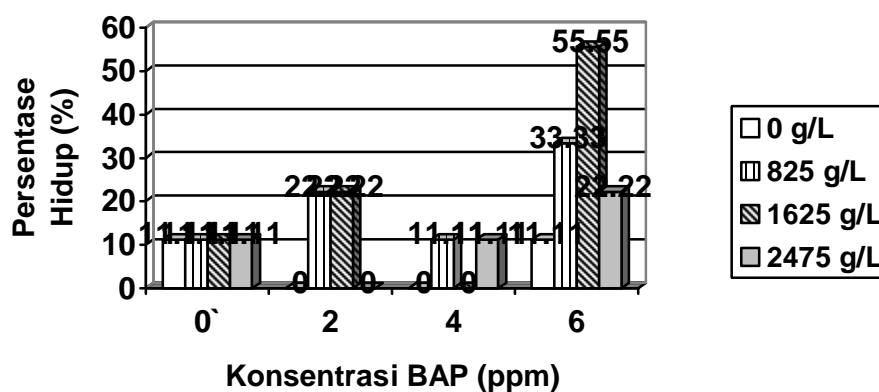
Pengamatan dilakukan terhadap persentase hidup planlet, saat tumbuh daun pertama, jumlah daun, tinggi tanaman, diameter batang, jumlah akar, dan panjang akar terpanjang.

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 TAHAP MULTIPLIKASI TUNAS (I)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase dua minggu awal penanaman mencapai 100 %, akan tetapi setelah berlangsung 4 minggu setelah tanam, terjadi penurunan terhadap persentase hidup eksplan. Eksplan mulai mengalami *browning* dan akhirnya mati. Menurut Fitriani (2003) *dalam* Nisa dan Rodima (2005), *browning* ini terjadi dikarenakan adanya sintesis fenolik. Dalam penelitian ini tanaman mengalami cekaman akibat dari pelukaan yang terjadi pada jaringan dan dari cekaman media yang digunakan. Sintesis senyawa fenolik dipacu oleh cekaman ataupun gangguan dari sel tanaman (Vickery and Vickery, 1980 *dalam* Nisa dan Rodima, 2005). Pemanasan fruktosa didalam medium berinteraksi dengan senyawa lain, misalnya saja  $\text{MgSO}_4$  yang dapat membentuk senyawa menjadi toksik sehingga dapat merangsang terjadinya pencoklatan ( Suprpto,1979, *dalam* Ambarwati, 1987).

Pada 2 minggu awal setelah subkultur keperlakuan, persentase hidup eksplan mencapai 100%. Namun setelah minggu selanjutnya atau dalam minggu ke-4 banyak eksplan yang mengalami pencoklatan. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase hidup eksplan pada minggu ke-12 mencapai 11,11%. Persentase hidup eksplan berbeda-beda pada setiap perlakuan. Ada beberapa eksplan yang hidup mencapai 55,55%, yaitu pemberian konsentrasi 20 ml/l amonium nitrat yang dikombinasikan dengan 6 ppm BAP seperti yang disajikan dalam histogram berikut.



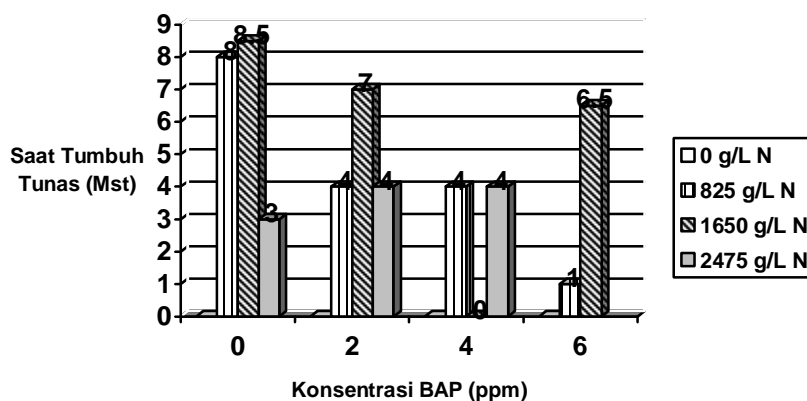
Gambar 4. Histogram rerata persentase hidup eksplan pisang pada berbagai taraf konsentrasi Amonium Nitrat (N) dan BAP secara *in vitro*

Hasil penelitian menunjukkan eksplan pisang ambon curup memberikan respon yang belum begitu maksimal. Hal ini diduga eksplan pisang ambon curup mampu merubah ZPT yang diberikan menjadi tidak berfungsi. Tanaman memiliki kemampuan untuk merubah ZPT menjadi lebih aktif atau kurang aktif serta kemampuan metabolisme tanaman itu sendiri (Wattimena, 1992). Gunawan (1998) juga menyatakan ZPT yang diberikan saat tanaman tidak peka maka ZPT yang diberikan tidak akan ada respon.

Dalam penelitian ini juga masih terjadi kontaminasi. Kontaminasi yang terjadi setelah eksplan rata-rata menunjukkan hidup saat umur 4 minggu setelah tanam. Kontaminasi ini terjadi karena adanya infeksi eksternal maupun infeksi internal. Usaha pencegahan kontaminasi eksternal adalah dengan sterilisasi permukaan. Kontaminasi internal tidak dapat dilakukan dengan sterilisasi permukaan.

Kontaminasi yang terjadi ini juga disebabkan karena eksplan yang mengandung kontaminan atau terinfeksi kontaminan akan menyebabkan kontaminasi pada awal

pertumbuhan. Meskipun pada awal penanaman tidak terlihat kontaminasi, beberapa minggu berikutnya pertumbuhan bakteri terjadi. Hal ini dapat dilihat pada eksplan yang mengalami kontaminan.

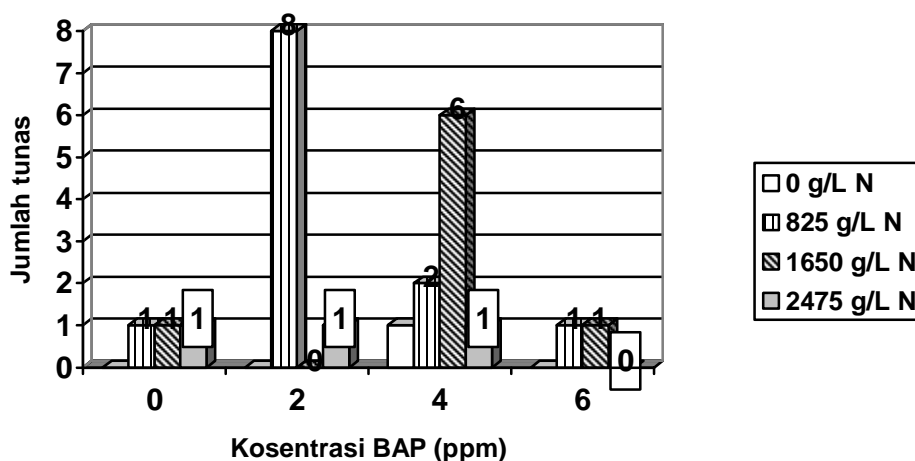


. Gambar 5. Histogram rerata saat tumbuh tunas Pisang ambon curup pada berbagai konsentrasi Amonium Nitrat dengan BAP secara *in vitro*

Waktu terbentuk tunas bervariasi pada setiap perlakuan. Waktu terbentuk tunas tercepat adalah pada perlakuan 6 ppm BAP dan 825 g/l amonium nitrat. Pertumbuhan eksplan tercepat terlihat pada perlakuan pemberian 6 ppm BAP yaitu sekitar satu minggu setelah tanam. Hal ini diduga bahwa pemberian BAP diduga memenuhi kebutuhan eksplan pisang ambon curup. Tunas terlama tumbuh pada perlakuan tanpa BAP, yaitu sekitar 8,5 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa untuk pembentukan tunas diperlukan sitokinin. Sesuai dengan pendapat George dan Sherrington (1984) bahwa pembentukan tunas memerlukan sitokinin dalam konsentrasi yang tinggi, dengan auksin ataupun sitokinin tanpa auksin.

Dalam hasil penelitian juga menunjukkan pemberian BAP memberikan jumlah tunas yang bervariasi pada setiap perlakuan. Jumlah tunas yang dihasilkan bervariasi

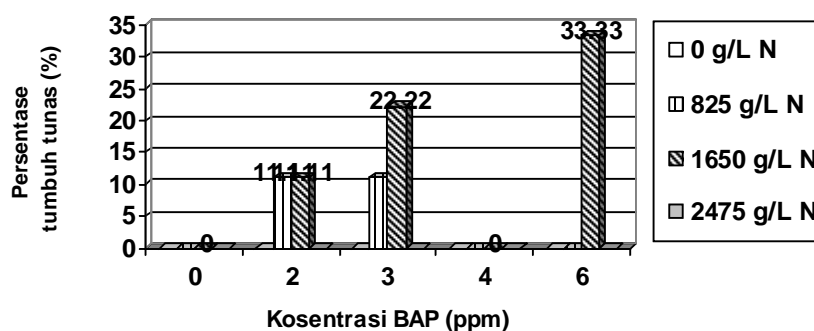
antara 1-8 tunas/eksplan. Kombinasi perlakuan menghasilkan tunas berpotensi menghasilkan tunas lebih banyak lagi karena masih banyak tunas-tunas kecil namun belum mencapai panjang 0,1 cm, sehingga tidak dimasukkan dalam jumlah tunas.



Gambar 6. Histogram jumlah tunas pereksplan pisang ambon curup secara *in vitro*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian BAP sampai dengan 6 ppm mampu menghasilkan tunas sebanyak 6 tunas/eksplan. Pertumbuhan tunas terbanyak diperoleh pada perlakuan konsentrasi 2 ppm BAP diduga sebagai konsentrasi yang tepat untuk merangsang pembentukan tunas pisang ambon curup secara *in vitro*. Hal ini sejalan dengan penelitian Sumarnik (2000) bahwa tunas pisang ambon curup terbentuk pada 2 ppm BAP. Hal ini berbeda dengan penelitian Martha (2003) yang menyatakan interaksi  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  20 ml/ dan BAP dan 0 – 2 ppm meningkatkan jumlah daun dan tinggi tunas Peppermint. Hasil penelitian Malini (2003) Pemberian 825 g/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dapat meningkatkan jumlah tunas pisang abaca. Hasil penelitian Ruswaningsih (2008) Kombinasi amonium nitrat 30 ml/ dengan konsentrasi BAP 1 mg/l dapat meningkatkan

jumlah tunas *Artemisia annua*. Perbedaan ini dikarenakan perbedaan spesies atau jenis tanaman yang digunakan.

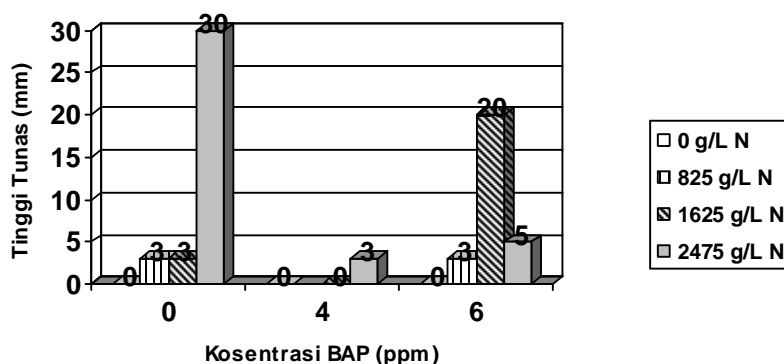


Gambar 7. Histogram persentase eksplan membentuk tunas pada berbagai taraf konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat secara invitro

Pemberian konsentrasi BAP ini tidak berpengaruh terhadap persentase pertumbuhan eksplan pisang ambon curup. Persentase eksplan membentuk tunas mencapai sekitar 33,33 %. Rendahnya pertumbuhan eksplan membentuk tunas diduga karena eksplan sangat tergantung dengan faktor endogen eksplan itu sendiri. Selain itu berperannya zat pengatur tumbuh bila kondisi fisiologi eksplan dalam keadaan prima.

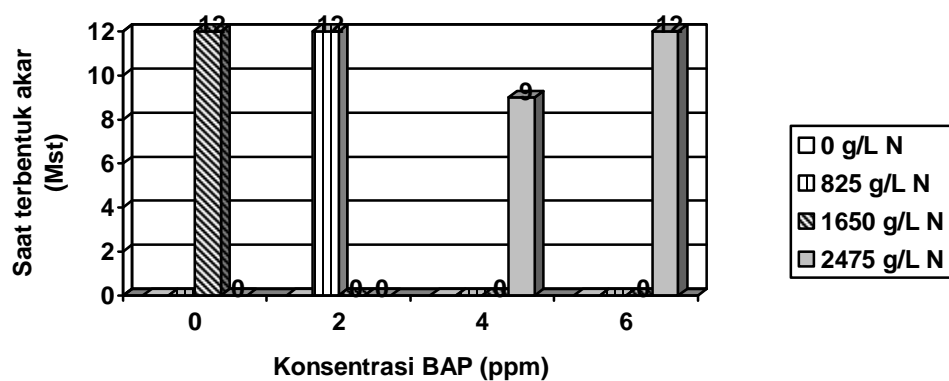
Pemberian Amonium nitrat tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan eksplan pisang ambon curup. Pemberian amonium nitrat sebanyak 30 ml/l, pada 1 minggu penelitian memberikan warna kehijauan eksplan paling tinggi diantara perlakuan lain. Semakin rendah konsentrasi  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  menurunkan warna tingkat kehijauan eksplan.



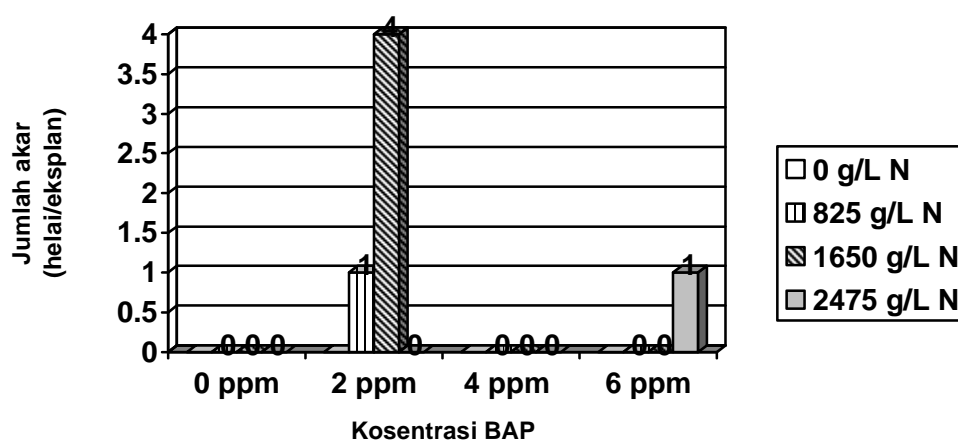


Gambar 8. Histogram tinggi tunas pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara *in vitro*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan 2475 g/l amonium nitrat dan tanpa BAP memberikan tunas tertinggi yaitu 30 mm. Pemberian amonium nitrat secara tunggal dapat meningkatkan tinggi tunas. Hal ini sesuai dengan fungsi dari nitrogen yang mampu meningkatkan tinggi tanaman. Hal ini sejalan dengan penelitian Agnestiana (2004) pemberian Ammonium nitrat 30 ml/L yang dikombinasikan dengan 30g/L sukrosa meningkatkan tinggi tunas tanaman pisang ambon curup. Seperti yang dijelaskan Gunawan (1998) salah satu unsur hara essensial yang dibutuhkan tanaman dalam bentuk amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) yang mampu mempengaruhi proses morphogenesis secara *in vitro*.



Gambar 9. Histogram saat terbentuk akar pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara *in vitro*

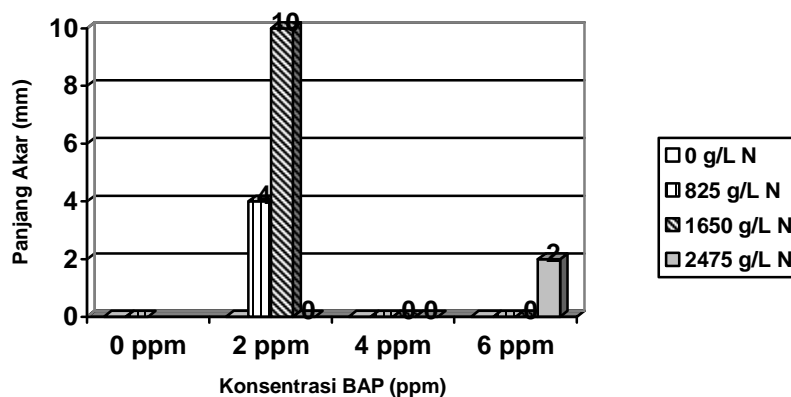


Gambar 10. Histogram jumlah akar eksplan pisang ambon curup terhadap konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat secara *in vitro*

Pemberian konsentrasi BAP dan ammonium nitrat ini tidak berpengaruh pada pertumbuhan akar eksplan. Jumlah akar eksplan hanya mencapai 4 helai/eksplan. Hal ini berbeda dengan penelitian Agnestiana yang menyatakan bahwa pemberian Amonium nitrat mampu meningkatkan jumlah akar eksplan. Hal ini diduga karena perbedaan bahan

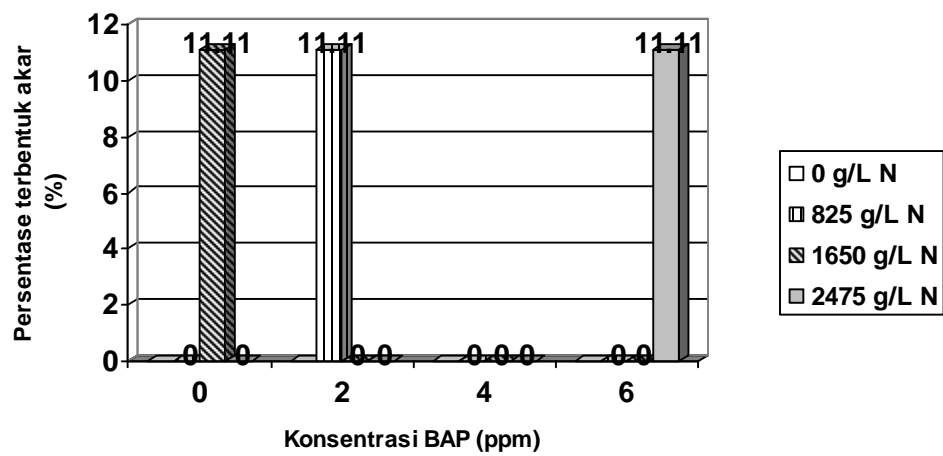
tanam yang digunakan. Dimana penelitiannya menggunakan inokulum pisang ambon curup. Sehingga memberikan respon yang berbeda.

Jumlah akar terpanjang eksplan pisang ambon curup diperoleh pada perlakuan 1650 g/l amonium nitrat dan 2 ppm BAP. Hal ini diduga eksplan pisang ambon curup memiliki auksin endogen. George dan Sherrington menyatakan bahwa sel untuk differensiasi dan membelah tidak tergantung auksin didalam media pertumbuhan tetapi dipengaruhi oleh IAA endogen dalam jaringan eksplan.

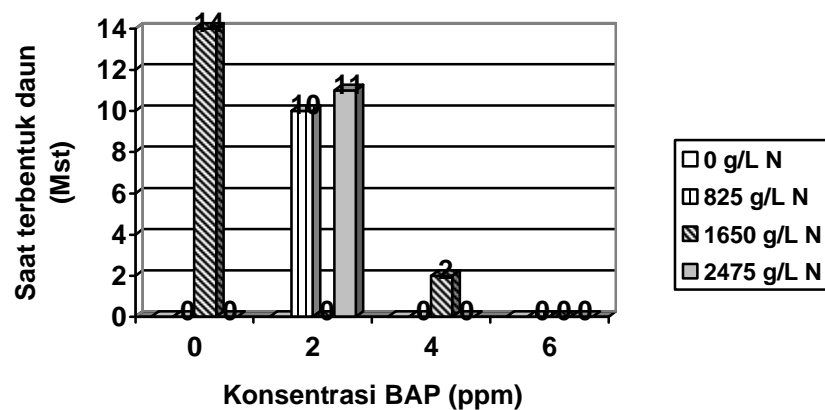


Gambar 11. Histogram panjang akar eksplan pisang ambon curup terhadap konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat secara *in vitro*

Panjang akar terpanjang diperoleh pada perlakuan 1650 gr/l amonium nitrat dan 2 ppm BAP yaitu 10 mm. Hal ini dikarenakan media MS memiliki kandungan unsur anorganik makro dan mikro serta konsentrasinya dalam keadaan seimbang. Sehingga memacu pembentukan akar. Menurut Salisbury dan Ross bahwa sel-sel akar umumnya mengandung auksin yang cukup dalam pembentukan dan pemanjangan jaringan. Sedangkan menurut Wattimena (1998) Auksin tidak hanya diproduksi diujung tunas tetapi juga diujung akar.



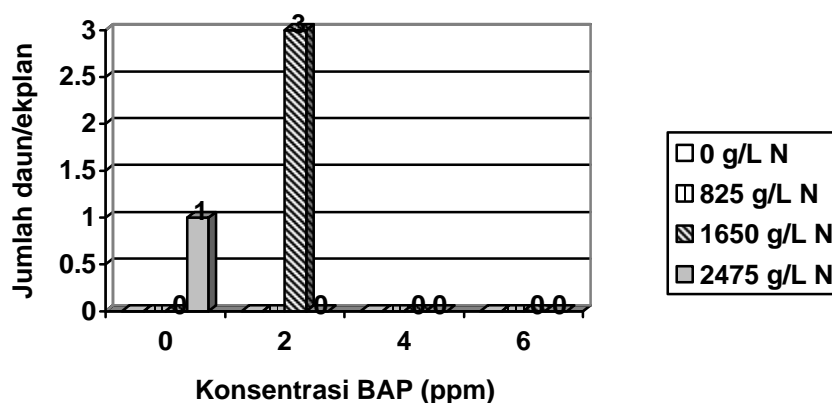
Gambar 12. Histogram persentase terbentuk akar pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara *in vitro*



Gambar 13. Histogram saat terbentuk daun pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara *in vitro*

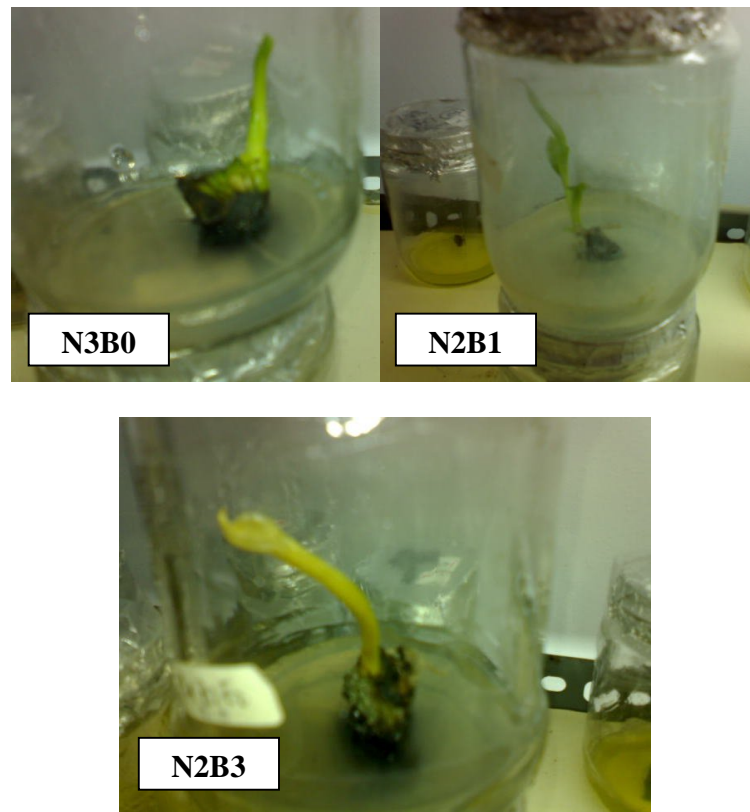
Pada pengamatan saat tumbuh daun, daun tercepat terbentuk pada perlakuan 1650 g/l amonium nitrat yang dikombinasi dengan 6 ppm BAP yaitu 2 minggu setelah tanam. Dalam penelitian Perlakuan, eksplan membentuk daun tanpa terlihat tunas. Waktu terbentuk daun terlama adalah pada perlakuan Amonium nitrat tunggal (2475 g/l

amonium nitrat dan 0 ppm BAP). Daun terbentuk cepat setelah eksplan membentuk tunas, yaitu 4 hari setelah tunas muncul. Dalam penelitian daun belum membuka sempurna maka, belum dimasukkan dalam variabel pengamatan jumlah daun. Pembentukan daun terbentuk setelah tanaman membentuk tunas pada perlakuan 1650 gr/l amonium nitrat dan 2 ppm BAP. Pada perlakuan ini selang waktu terbentuk daun, setelah tunas terbentuk yaitu sekitar 4 minggu setelah tunas muncul.



Gambar 14. Histogram jumlah daun pisang ambon curup pada konsentrasi BAP dan Amonium Nitrat yang berbeda secara *in vitro*

Jumlah daun/eksplan hanya terdapat pada perlakuan ini dan juga telah menjadi eksplan yang lengkap. Seperti yang tersaji dalam histogram diatas.



Gambar 15. Pertumbuhan daun Eksplan pisang ambon curup Secara *in vitro*

## 5.2 TAHAP MULTIPLIKASI TUNAS (II)

Pada penelitian ini data yang diperoleh dilakukan uji normalitas. Hasil uji normalitas menunjukkan beberapa data tidak normal sehingga data tersebut ditransformasi yang disajikan dalam Tabel 2 berikut :

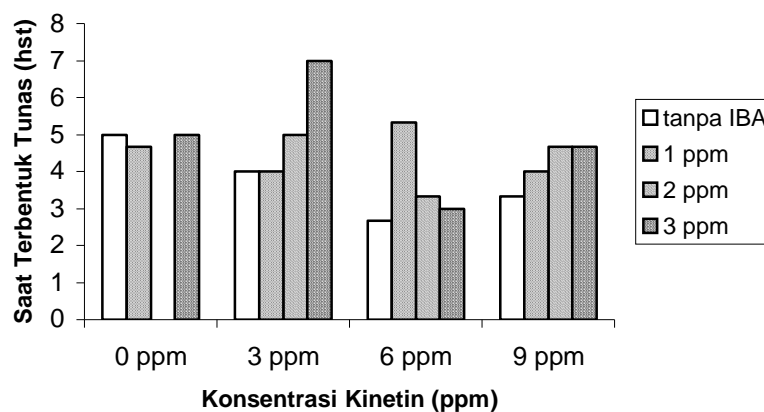
Tabel 1. Rangkuman hasil uji normalitas berdasarkan metode Kolmogorov-Smirnov.

Variabel Pengamatan	Probabilitas	Normal/tidak normal
1. Saat terbentuk tunas (hst)	$P = <0,001$	Tidak Normal
2. Jumlah tunas (Tunas/eksplan)	$P = <0,001$	Tidak Normal
3. Tinggi tunas (cm)	$P = 0,001$	Tidak Normal
4. Berat basah total tanaman (g)	$P = 0,645$	Normal
5. Saat terbentuk akar (hst)	$P = <0,001$	Tidak Normal
6. Jumlah akar (akar/eksplan)	$P = 0,188$	Normal
7. Panjang akar (cm)	$P = 0,001$	Tidak Normal
8. Berat basah akar (g)	$P = 0,297$	Normal
9. Saat terbentuk daun (hst)	$P = <0,001$	Tidak Normal
10. Jumlah daun (daun/eksplan)	$P = <0,001$	Tidak Normal

Tabel 2 menunjukkan bahwa hanya variabel berat basah total tanaman, berat basah akar dan jumlah akar yang memiliki data normal setelah ditransformasi, sehingga dapat dianalisis dengan analisis keragaman. Dari hasil analisis keragaman diperoleh pengaruh yang tidak beda nyata. Sedangkan variabel saat terbentuk tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, saat terbentuk akar, panjang akar, saat terbentuk daun, dan jumlah daun memiliki data yang tidak normal. Sehingga hasil yang diperoleh disajikan secara deskriptif berdasarkan data rerata pengamatan.

## Variabel Tunas

### a. Saat terbentuk tunas (hst)



Gambar 16. Pengaruh konsentrasi kinetin dan IBA terhadap saat terbentuk tunas (hst) pisang ambon Curup secara *in vitro*.

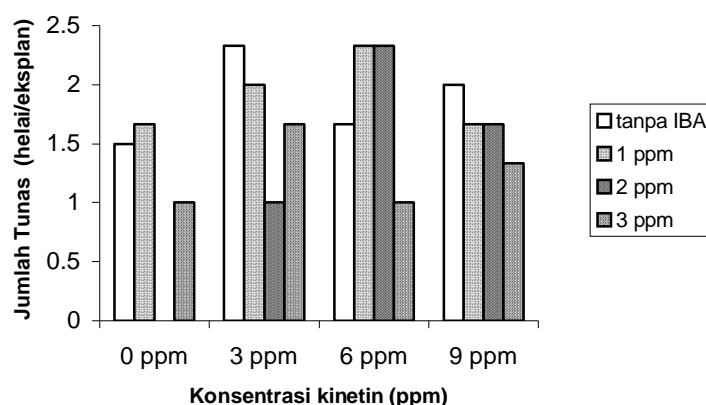
Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pembentukan tunas tercepat didapat pada pemberian 6 ppm kinetin dan tanpa IBA dengan rerata pembentukan tunas 2,67 hst. Sedangkan untuk pembentukan tunas terlama didapat pada pemberian 3 ppm kinetin yang dikombinasikan dengan 3 ppm IBA yaitu 7 hst. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kinetin sangat berperan dalam terbentuknya tunas yang lebih cepat. Menurut Wattimena (1992) peran fisiologis sitokinin terutama kinetin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, dan pembentukan kloroplas. Hal senada dikemukakan oleh Bhojwani dan Rajdan (1983) bahwa kinetin merupakan hormon tumbuhan yang berperan dalam pembelahan sel, diferensiasi sel dan tunas.

Menurut Smith (1992) dalam Zuyasna dkk (1998) pemberian sitokinin seperti BA, BAP, kinetin atau zeatin ke dalam media akan berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan, yaitu menghilangkan dominasi apikal dan dapat menginduksi tunas secara *in vitro*. Selanjutnya dari penelitian Haryanto (1993) menunjukkan dengan pemberian 0,1



ppm 2,4 – dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) yang dikombinasikan dengan 3 ppm kinetin menghasilkan waktu terbentuknya tunas Gladiol tercepat yaitu 5,50 hari setelah tanam.

b. Jumlah tunas (tunas/eksplan)



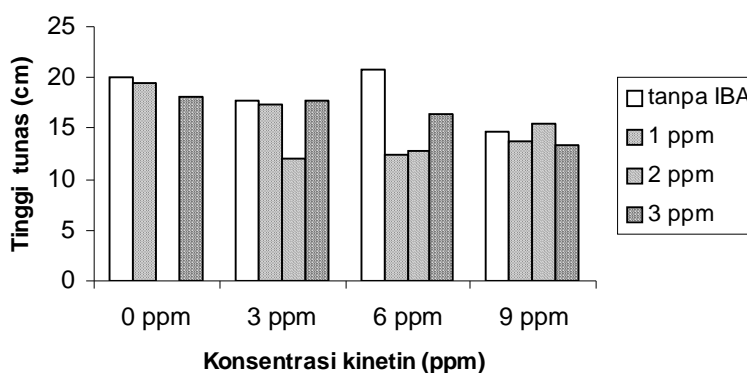
Gambar 17. Pengaruh konsentrasi kinetin dan IBA terhadap jumlah tunas (tunas/eksplan) pisang ambon Curup secara *in vitro* (12 minggu).

Hasil pengamatan menunjukkan jumlah tunas terbanyak terdapat pada kombinasi perlakuan 3 ppm kinetin dengan tanpa IBA dan 6 ppm kinetin yang dikombinasikan dengan 1 ppm dan 2 ppm IBA diperoleh rerata jumlah tunas yang terbentuk adalah 2,33 tunas/eksplan. Hal ini di duga sitokinin berperan dalam pembentukan tunas pisang ambon Curup secara *in vitro*. Peningkatan taraf konsentrasi sitokinin yang diberikan akan meningkatkan jumlah tunas, tetapi menurunkan tinggi tanaman dan jumlah daun. Menurut George & Sherrington (1984) bahwa untuk pembentukan tunas membutuhkan sitokinin dengan auksin yang rendah atau tanpa auksin. Selanjutnya menurut Pierik (1997) mengemukakan bahwa pembentukan tunas

pada kebanyakan tanaman *in vitro* membutuhkan auksin dengan konsentrasi rendah dan sitokinin dengan konsentrasi tinggi. Efek tersebut terjadi pada media perlakuan dengan pemberian kinetin. Hal ini sesuai dengan beberapa pendapat bahwa penggunaan sitokinin pada konsentrasi tinggi akan meningkatkan pembentukan tunas, tetapi pertumbuhan masing-masing tunas terhambat (George and Sherington, 1984; Wattimena, 1988).

Berbeda dengan tanaman umbi kentang yang dihasilkan dari penelitian Zuyasna *dkk* (1998) mendapatkan konsentrasi yang baik untuk meningkatkan persentase tumbuh tunas umbi kentang adalah 0,4 ppm IAA dan 4 ppm kinetin. Sedangkan pada penelitian Haryanto (1993) mendapatkan konsentrasi yang baik pula untuk meningkatkan persentase tumbuh tunas adalah 0,1 ppm 2,4-D dan 3 ppm kinetin pada tanaman Gladiol (*Gladiolus hybridus* Hort).

c. Tinggi tunas (cm)



Gambar 18. Pengaruh konsentrasi kinetin dan IBA terhadap tinggi tunas (cm) pisang ambon Curup secara *in vitro* pada umur 12 minggu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian 6 ppm kinetin tanpa IBA menghasilkan rerata tunas tertinggi yaitu 20,8 cm (Gambar 6). Sedangkan tinggi tunas terpendek diperoleh pada kombinasi 3 ppm kinetin yang dikombinasikan dengan 2 ppm IBA yaitu 11,93 cm. Pada perlakuan 2 ppm IBA tanpa kinetin tidak terbentuknya tunas. Hal ini di duga adanya kinetin yang diberikan pada tanaman pisang ambon Curup secara *in vitro* yang meningkatkan tinggi tunas pisang ambon.

Pada penelitian ini dengan meningkatkan pemberian kinetin akan menurunkan tinggi tunas pisang ambon Curup secara *in vitro*. Pada konsentrasi 6 ppm kinetin dengan tanpa IBA yang menghasilkan tunas tertinggi, sedangkan pada peningkatan kinetin 9 ppm bahkan menurunkan tinggi tunas. Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin yang lebih tinggi dengan penambahan auksin yang tinggi pula akan menurunkan tunas pisang ambon Curup secara *in vitro*. Menurut Wattimena (1992) peran fisiologis sitokinin terutama kinetin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, dan pembentukan kloroplas. Hal senada dikemukakan oleh Bhojwani dan Rajdan (1983) bahwa kinetin merupakan hormon tumbuhan yang berperan dalam pembelahan sel, diferensiasi sel dan tunas. Hal ini juga terlihat dari hasil penelitian Haryanto (1998) bahwa penambahan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin akan memacu aktivitas hormon endogen yang ada dalam eksplan mata tunas *Gladiol* secara *in vitro*. Tinggi tunas tertinggi yaitu 20,25 cm pada kombinasi perlakuan media MS yang ditambahkan 0,1 ppm 2,4-D dengan 3 ppm kinetin.

Menurut Wattimena (1992) pemanjangan organ tanaman salah satunya dipengaruhi oleh auksin, karena auksin dapat mendorong perbesaran sel. Akan tetapi

setiap penambahan IBA pada penelitian ini justru akan menurunkan tinggi tunas pisang ambon Curup.

d. Berat basah total tanaman (g)



Gambar 19. Tanaman pisang ambon Curup pada umur 12 minggu setelah tanam.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa berat basah total tanaman didapat pada pemberian 6 ppm kinetin tanpa IBA yang tingginya yaitu 7,73 g/eksplan. Hal ini diduga terjadinya pembesaran sel pada organ tanaman sehingga bagian tanaman seperti akar, batang dan daun mengalami pembengkakan akibat dari pemberasan sel karena adanya air. Menurut Salisbury dan Ross (1992), berat basah akan bertambah apabila pengambilan air cukup, sehingga sel dapat berkembang dengan baik. Sitokinin juga berperan dalam pertumbuhan, perkembangan dan multiplikasi eksplan pisang ambon Curup secara *in vitro*. Selanjutnya Haryanto (1993) mengemukakan bahwa berat tanaman Gladiol dipengaruhi secara nyata oleh penambahan 2,4-D dan kinetin. Berat tertinggi dicapai oleh penambahan 0,1 ppm 2,4-D dan 3,0 ppm kinetin yang memberikan hasil terbaik yaitu 4,83 g. Menurut George & Sherrington (1984) bahwa tunas membutuhkan sitokinin dengan auksin yang rendah atau tanpa auksin.

## Variabel Akar

### a. Saat terbentuk akar (hst)

Tabel 2. Rata – rata saat terbentuk akar (hst)

IBA/Kinetin	Tanpa Kinetin	3 ppm	6 ppm	9 ppm	Rerata
Tanpa IBA	7.5	6.67	5	15.67	8.71
1 ppm	5.67	5.33	5.67	11	6.92
2 ppm	6	5.33	16.67	8.67	9.17
3 ppm	10	8.33	14	8.5	10.21
Rerata	7.27	6.42	10.34	10.98	

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian 6 ppm kinetin tanpa IBA memiliki rerata waktu tercepat terhadap saat terbentuk akar yaitu 5 hst. Pemberian 6 ppm kinetin yang dikombinasikan dengan 2 ppm IBA merupakan perlakuan yang memiliki waktu terlama terhadap saat terbentuk akar yaitu 16,67 hst.

Setiap peningkatan konsentrasi IBA pada tanaman pisang ambon secara *in vitro* maka akan meningkatkan lamanya saat terbentuk akar. Dari penelitian ini bahwa kebutuhan auksin untuk menginduksi pengakaran tergantung dengan tunas yang terbentuk. Hal ini berhubungan dengan kandungan auksin endogen yang ada pada tunas. Menurut George dan Sherrington (1984) kemampuan sel untuk diferensiasi dan membelah tidak hanya tergantung pada keberadaan auksin di dalam media pertumbuhan tetapi juga dipengaruhi kandungan IAA endogen dalam jaringan eksplan. Menurut Salisbury dan Ross (1992) bahwa sel-sel akar umumnya mengandung auksin yang cukup dalam pembentukan dan pemanjangan akar. Selanjutnya menurut Wattimena (1988) auksin diproduksi tidak hanya di ujung tunas tetapi auksin juga di produksi di ujung akar.

Sehingga tanpa suplai auksin dan sitokinin secara eksogen, tanaman akan tetap tumbuh dan berkembang dengan adanya hormon endogen.

b. Panjang Akar

Tabel 3. Rata – rata panjang akar (cm)

IBA/Kinetin	Tanpa Kinetin	3 ppm	6 ppm	9 ppm	Rerata
Tanpa IBA	23.9	29.13	15.3	14.3	20.66
1 ppm	22.2	16.67	18.33	17.93	18.78
2 ppm	8.1	23.23	14.47	18.5	16.075
3 ppm	9.93	23.53	12.15	18.95	16.17
Rerata	16.03	23.17	15.11	17.42	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian 3 ppm kinetin tanpa IBA pada media MS memiliki rata-rata terpanjang untuk panjang akar yaitu 29,13 cm. Dengan meningkatkan konsentrasi IBA justru menurunkan panjang akar yang dihasilkan. Sedangkan akar terpendek diperoleh pada perlakuan 2 ppm IBA tanpa kinatin yaitu 8,1 cm. Diduga pada konsentrasi kinetin yang tinggi, tanaman akan memunculkan efek-efek sekunder yang menjadi penyebab langsung dari penghambatan pemanjangan akar. Auksin endogen punya peran dalam pemanjangan akar dan juga media MS mendukung pertumbuhan dan perkembangan akar. Media MS memiliki kandungan unsur anorganik makro dan mikro, serta komponennya dalam konsentrasi seimbang, hal ini menyebabkan media MS lebih mampu memacu terbentuk akar. Menurut Salisbury dan Ross (1992) bahwa sel-sel akar umumnya mengandung auksin yang cukup dalam pembentukan dan pemanjangan akar. Selanjutnya menurut Wattimena (1988) auksin diproduksi tidak hanya di ujung tunas tetapi auksin juga diproduksi di ujung akar.

c. Jumlah Akar



Gambar 20. Tanaman pisang ambon Curup pada umur 12 minggu setelah tanam

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian tanpa kinetin dengan tanpa IBA menghasilkan rata-rata jumlah akar sebanyak 12 akar/eksplan. Dan diikuti oleh tanpa kinetin dengan 1 ppm IBA menghasilkan rerata jumlah akar yaitu 11 akar/eksplan.

Hal ini menunjukkan bahwa untuk pembentukan akar pisang ambon Curup secara *in vitro* diduga eksplan memiliki auksin endogen yang cukup untuk merangsang munculnya akar. Hal ini sejalan dengan George dan Sherrington (1984) kemampuan sel untuk diferensiasi dan membelah tidak hanya tergantung pada keberadaan auksin di dalam media pertumbuhan tetapi juga dipengaruhi kandungan IAA endogen dalam jaringan eksplan. Menurut Salisbury dan Ross (1992) bahwa sel-sel akar umumnya mengandung auksin yang cukup dalam pembentukan dan pemanjangan akar. Selanjutnya menurut Wattimena (1988) auksin diproduksi tidak hanya di ujung tunas tetapi auksin juga di produksi di ujung akar. Pembentukan akar hanya memerlukan auksin dengan konsentrasi yang rendah untuk membantu menginduksi akar, sehingga pemanjangan dan

jumlah akan semakin meningkat dengan adanya auksin endogen yang terkandung di dalam eksplan.

d. Berat Basah Akar



Gambar 21. Tanaman pisang ambon Curup secara *in vitro* pada umur 12 minggu.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian tanpa kinetin dengan 1 ppm IBA memberikan berat basah akar sebesar 2,61 g/eksplan. Dari hasil penelitian ini, di duga dengan pemberian auksin akan menyebabkan unsur hara lebih banyak diserap untuk pembelahan dan pemanjangan sel akar, sehingga dapat meningkatkan berat basah akar pisang ambon Curup. Dalam penelitian ini auksin dibutuhkan dalam jumlah yang rendah untuk meningkatkan berat basah akar pada tanaman pisang ambon Curup secara *in vitro*. Menurut Wattimena (1988) pada konsentrasi auksin yang tinggi akan menghambat pembesaran akar. Selanjutnya menurut Salisbury dan Ross (1992), berat basah akan bertambah apabila pengambilan air cukup, sehingga sel dapat berkembang dengan baik. Dalam kultur jaringan bukan hanya air saja yang berperan, tetapi auksin juga berperan dalam induksi kalus, pembentukan akar dan pembentukan klorofil.



Pengaruh fisiologi auksin antara lain pembesaran sel, dominasi apikal absisi, dan aktivitas dari kambium (Wattimena, 1992).

### Variabel Daun

#### a. Saat eksplan membentuk daun (hst)

Tabel 4. Rata – rata saat eksplan membentuk daun (hst)

IBA/Kinetin	Tanpa Kinetin	3 ppm	6 ppm	9 ppm	Rerata
Tanpa IBA	9	7	6	9	7.75
1 ppm	9.67	6.67	9.67	8.33	8.58
2 ppm	0	10	7.33	9.67	6.75
3 ppm	9	11.33	7	11.33	9.67
Rerata	6.97	8.75	7.5	9.58	

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pembentukan daun tercepat didapat pada pemberian 6 ppm kinetin dengan tanpa IBA dengan rerata pembentukan 6 hst. Sedangkan pembentukan daun terlama diperoleh pada pemberian 3 ppm kinetin yang dikombinasikan dengan 3 ppm IBA yaitu 11,33 hst. Terlihat dari gambar bahwa konsentrasi 6 ppm kinetin efektif dalam mempercepat pembentukan daun. Dari hasil penelitian ini sitokinin yang diberikan melalui media tanam akan meningkatkan saat terbentuk daun tercepat dengan tidak menambahkan auksin di dalamnya. Menurut George & Sherrington (1984) bahwa untuk pembentukan tunas membutuhkan sitokinin dengan auksin yang rendah atau tanpa auksin.. Menurut Wattimena (1992) peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan, pembentukan stomata, pembungaan, dan pembentukan buah partenokarpi. Selanjutnya menurut Davies (1995) peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel,

morfogenesis, pertumbuhan pucuk lateral, pembesaran daun, pembukaan stomata dan pembentukan kloroplas.

b. Jumlah daun (daun/eksplan)

Hasil pengamatan untuk jumlah daun pisang ambon Curup *in vitro* pada beberapa taraf konsentrasi kinetin dan IBA disajikan pada Gambar 12. Jumlah daun terbanyak adalah 8 daun/eksplan pada konsentrasi 9 ppm kinetin yang dikombinasikan dengan 2 ppm IBA. Sedangkan pada Pemberian 3 ppm kinetin tanpa IBA menghasilkan jumlah daun paling sedikit yaitu 5 daun/eksplan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kinetin yang diberikan pada pertumbuhan pisang ambon Curup secara *in vitro* akan meningkatkan jumlah daun yang terbentuk. Sedangkan pada konsentrasi 1 ppm IBA semakin tinggi penambahan konsentrasi kinetin akan menurunkan jumlah daun pisang ambon Curup secara *in vitro*.

Tabel 5. Rata – rata pengamatan jumlah daun (daun/eksplan)

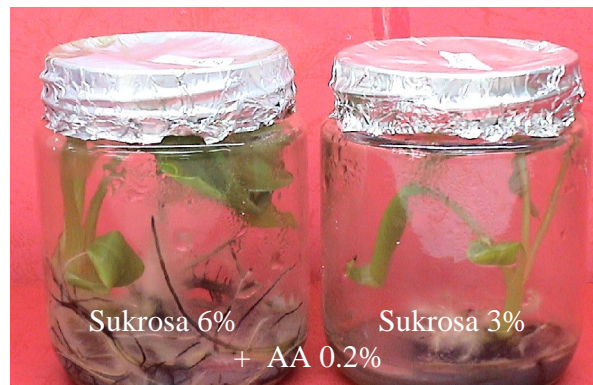
IBA/Kinetin	Tanpa Kinetin	3 ppm	6 ppm	9 ppm	Rerata
Tanpa IBA	6.5	5	6	6	5.87
1 ppm	7.33	7.33	6.33	5.33	6.58
2 ppm	0	5.33	6	8	4.83
3 ppm	6	5.67	6.5	5.33	5.87
Rerata	4.96	5.83	6.21	6.17	

Menurut Pierik (1997) menyatakan bahwa pemberian sitokinin pada konsentrasi optimal menghentikan dominasi apikal dan merangsang pembentukan tunas lateral. Selanjutnya dari hasil penelitian Haryanto (1998) menunjukkan jumlah daun *Dianthus sp* yang terbanyak diperoleh dari medium 0,5 mg/L kinetin yang ditambahkan dengan 0,3 mg/L NAA yaitu 7,8 helai/eksplan. Sedangkan jumlah daun terendah dari

medium 2 mg/L BAP + 0.3 mg/L NAA mempunyai jumlah daun rata-rata/tunas yaitu 4,94 helai/eksplan.

### 5.3 TAHAP HARDENING *IN VITRO*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase pertumbuhan eksplan pada media hardening mencapai angka 100%. Semua eksplan yang dikulturkan dengan perlakuan hardening mengalami pertumbuhan yang baik, tanpa kontaminasi dan kematian eksplan. Dalam 8 minggu kultur, eksplan menunjukkan pertumbuhan tunas dan akar yang kuat. Pada *hardening in vitro* ini, perlakuan pemberian sukrosa (3, 6, 9, dan 12 %) tidak diberikan secara keseluruhan. Sukrosa yang diberikan hanya dalam konsentrasi 3 dan 6 % (setara dengan 30 dan 60 g/L). Demikian juga halnya dengan pemberian arang aktif yang seharusnya pada taraf 0, 2, 4, dan 6 g/L, hanya diberikan pada taraf 0 dan 2 g/L saja. Hal ini dilakukan karena selama periode kultur pada tahap multiplikasi tunas, pertumbuhan tanaman sudah cukup optimal. Pertumbuhan tunas dan akar membentuk planlet yang lengkap sudah diperoleh. Akar yang terbentuk bukan merupakan *glassy root*, tetapi akar sesungguhnya dengan bulu-bulu akar yang banyak (Gambar 14). Dengan melihat kondisi tersebut, menunjukkan bahwa planlet sudah cukup kuat untuk diaklimatisasikan ke lingkungan *ex vitro*, walaupun tanpa melalui proses *hardening in vitro*. Dengan demikian, proses kultur tanaman pisang ambon Curup ini dapat memangkas dan mengefisienkan waktu kultur, dengan meniadakan proses *hardening in vitro*.



Gambar 22. Pertumbuhan planlet pada media dengan penambahan sukrosa 3 dan 6% serta penambahan arang aktif 0.2 % (10 minggu kultur)

Adanya penambahan sukrosa dan arang aktif di dalam media kultur sangat mendukung terbentuknya tunas dan akar *in vitro*. Sukrosa memiliki peranan yang penting dalam penyediaan sumber energi untuk proses pertumbuhan dan perkembangan sel, jaringan dan organ (Salisbury dan Ross, 1995). Hal yang sama dijelaskan oleh George dan Sherrington (1984) bahwa sukrosa sebagai sumber karbon sangat menentukan pertumbuhan tanaman. Sedangkan penambahan arang aktif (*activated charcoal*) dalam media, sangat membantu terjadinya organogenesis *in vitro*. Menurut Gunawan (1988) arang aktif berfungsi sebagai pengabsorpsi ZPT dan senyawa fenolik yang terdapat dalam media sehingga dapat mengendalikan pertumbuhan kalus yang tak dikehendaki sehingga dapat menstimulasi pembentukan organ.



Gambar 23. Pertumbuhan planlet pada media dengan 6 % sukrosa tanpa pemberian arang aktif (10 minggu setelah kultur)

Pemberian sukrosa dengan konsentrasi yang tinggi (60 g/L) sangat diperlukan dalam meningkatkan perbaikan pertumbuhan pisang ambon Curup *in vitro*. Hasil yang hampir sama diperoleh pada penelitian Nagakubo *et al.* (1993) menambahkan 6-12% sukrosa untuk menginisiasi pembentukan umbi bawang putih *in vitro*. Sedangkan Wang dan Hu (1980; 1982) dalam George dan Sherrington (1984) melaporkan bahwa pembentukan umbi dapat dilakukan dengan menginkubasi planlet dalam media yang mengandung 3-10 mg/l BAP dan 8% sukrosa.

#### 5.4 AKLIMATISASI PADA MEDIA COMPOT

Tahap aklimatisasi merupakan tahap akhir dari semua tahapan dalam kegiatan kultur yang menempatkan tanaman dalam kondisi yang steril. Tahap aklimatisasi merupakan tahap yang sangat kritis, dimana tanaman hasil kultur diadaptasikan pada lingkungan *ex vitro* yang memiliki kondisi yang berbeda dengan kondisi selama periode kultur. Dalam tahap aklimatisasi, tanaman harus mampu menyesuaikan diri dengan

lingkungannya, termasuk dalam penyediaan makanan bagi kelangsungan pertumbuhan dan perkembangannya.

Penelitian ini dilaksanakan di *screen-house* dengan *shading* 65%, suhu harian rata-rata 25,5 °C, kelembaban rata-rata 84,8 %. Kondisi ini cukup mendukung untuk aklimatisasi dan pertumbuhan tanaman jahe. Menurut Bonga *et al.*, (1992) kisaran suhu untuk aklimatisasi adalah 5-40°C. Ziv (1990) menjelaskan pula bahwa kelembaban lingkungan untuk aklimatisasi adalah 80-85%. Hasil analisis media tanam sebelum penelitian terhadap pH H<sub>2</sub>O, C-organik, N-total, P-tersedia, K-dd, dan Kapasitas Tukar Kation (KTK) untuk masing-masing komposisi media menunjukkan nilai yang relatif tinggi.



Gambar 24. Planlet hasil kultur yang siap diaklimatisasi



Gambar 25. Pertumbuhan planlet pisang ambon Curup sangat lambat pada saat 1 minggu aklimatisasi

Perlakuan yang tepat selama tahapan aklimatisasi sangat mempengaruhi proses penyesuaian diri planlet dengan lingkungannya. Penempatan planlet pisang ambon Curup pada media *compot* menunjukkan pertumbuhan yang sangat baik. Hal ini diindikasikan dengan adanya persen tumbuh planlet yang mencapai 100 % pada media aklimatisasi pada semua perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman hanya mengalami stagnasi pada minggu pertama aklimatisasi. Hal ini dapat terjadi karena planlet mengalami masa adaptasi terhadap lingkungan yang memiliki kelembaban yang rendah dibandingkan kondisi lingkungan kulturnya. Disamping itu, peningkatan suhu yang cukup tinggi dibandingkan suhu di ruang kultur mengakibatkan meningkatnya proses transpirasi dari jaringan tanaman, yang berakibat pada menurunnya tekanan turgor tanaman.

Tabel 6. Rangkuman hasil sidik ragam pengaruh komposisi media *compot* terhadap pertumbuhan planlet pisang ambon Curup (6 minggu setelah tanam).

Peubah	F-hit	P
1. Tinggi Tunas	39.01	0,004 **
2. Jumlah daun	10.50	0,011*
3. Panjang Daun	22.10	0,002 **
4. Lebar Daun	307.11	0,00 **
5. Diameter Batang	5.44	0,045 *

Keterangan : \* Berbeda nyata pada uji F taraf 5%,

\*\* sangat berbeda nyata pada uji F taraf 1%

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan komposisi media *compot* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah daun dan diameter batang.

Komposisi media kompos juga memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap tinggi tunas, panjang daun, dan lebar daun.

Pertumbuhan tanaman sangat dipengaruhi oleh lingkungan tumbuh tanaman, termasuk media tanam yang diberikan. Media tanam merupakan sumber nutrisi yang dibutuhkan tanaman untuk melakukan proses metabolisme bagi pertumbuhan dan perkembangannya. Penggunaan media tanam yang tepat sangat menentukan pertumbuhan tanaman, termasuk proses pertumbuhan dalam masa aklimatisasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan media kompos pupuk kandang yang diberi *Trichoderma harzianum* menunjukkan pertumbuhan planlet yang lebih baik dibandingkan dengan pertumbuhan planlet pada media tanah ataupun media tanah dengan pupuk kandang dengan *T. Harzianum* (Tabel 7). Hasil penelitian ini menegaskan bahwa penggunaan jenis media tanam sangat menentukan proses pertumbuhan tanaman yang diaklimatisasi. Pada semua peubah yang diamati menunjukkan bahwa planlet yang diaklimatisasi pada media pupuk kandang dengan *T. Harzianum* memberikan respon yang lebih baik dibandingkan kedua media lainnya.

Tabel 7. Pengaruh komposisi media kompos terhadap pertumbuhan pisang ambon Curup (6 minggu setelah tanam).

Perlakuan	TT	JD	PD	LD	DB
M1	14,567 b	4,333 b	10,833 b	3,500 b	0,567 a
M2	16,000 b	5,667 a	12,067 b	3,733 b	0,667 a
M3	26.933 a	6,000 a	18,367 a	7,067 a	0,833 a

Keterangan : TT = tinggi tanaman, JD = jumlah daun, PD = panjang daun, LD = luas daun, dan DB = diameter batang.

Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada uji DMRT 5%



Planlet pisang ambon Curup mempunyai perakaran yang berbentuk akar serabut. Akar serabut ini memungkinkan kontak antara akar dengan *mucigel* dalam media menjadi lebih luas (Subronto, 1997), sehingga akar tanaman dapat menyerap nutrisi yang ada dalam media dengan baik. Dengan adanya suplai nutrisi bagi pertumbuhannya, maka planlet lebih cepat beradaptasi dengan media *ex vitro*. Perkembangan perakaran lebih dominan pada masa awal pertumbuhan tanaman sehingga mempengaruhi laju pertumbuhan tanaman bagian atas.

Media tumbuh yang baik harus dapat menyediakan unsur nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman dan tekstur dan struktur yang memudahkan perkembangan akar tanaman (Subronto, *dkk.*, 1997). Jika perakaran berkembang dengan baik, maka pertumbuhan tanaman akan baik. Hal ini disebabkan karena penyerapan air dan unsur hara sangat dipengaruhi oleh sistem perakaran (Sarief, 1986). Pertumbuhan perakaran yang baik ditentukan oleh komposisi media yang akan menentukan porositas, kelembaban, suhu, dan tata udara tanah (Hakim *et al.*, 1986 ; Sutejo dan kartasapoetra, 1987).

Berdasarkan hasil analisis tanah, Kapasitas Tukar Kation (KTK) yang dikandung M3 tergolong sangat tinggi yaitu 28,79%. Tisdale dan Nelson (1975) menyatakan bahwa KTK yang tinggi menunjukkan kejenuhan basa yang tinggi pula, sehingga kation yang dapat dipertukarkan dalam media meningkat. KTK yang tinggi M3 akan mengakibatkan penyerapan unsur hara semakin banyak sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Analisis media tanam juga menunjukkan bahwa kandungan unsur P sangat tinggi pada media M<sub>3</sub>. Unsur P ini sangat penting dalam proses metabolisme energi, karena keberadaannya dalam ATP (*Adenosin trifosfat*), ADP(*Adenosin Difosfat*), AMP

(*Adenosin Monofosfat*), dan *Purofosfat* (Ppi) (Salisbury dan Ross, 1995). Sistem perakaran yang baik ditambah dengan KTK yang tinggi memungkinkan serapan hara oleh akar menjadi lebih baik sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.



Gambar 26. Penampilan pisang ambon Curup pada media aklimatisasi (6 minggu aklimatisasi)

## VII. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Multiplikasi tunas pisang ambon curup dapat ditingkatkan dengan pemberian  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dan BAP secara *in vitro*. Pada media dengan 825 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dan BAP 2 ppm, diperoleh jumlah JT (8 tunas/eksplan). Pemberian 1650 mg/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  memberikan JA terbanyak (4 akar/eksplan), dan JD (3 daun/eksplan).
2. Pada media multiplikasi dengan pemberian 6 ppm kinetin tanpa IBA diperoleh STT (2,67 hst), STA (5 hst), STD (6 hst), BBT (7,728 g), dan TT (20,8 cm). Pemberian 3 ppm kinetin tanpa IBA menghasilkan PA (29,13 cm) dan JT (2,33 tunas/eksplan).
3. Penambahan sukrosa 6% dan arang aktif 0.2 % diperlukan dalam media hardening *in vitro*.
4. Persentase hidup eksplan mencapai 100% pada semua media aklimatisasi. Pada media aklimatisasi pupuk kandang dengan penambahan *Trichoderma harzianum* pertumbuhan tanaman menunjukkan respon terbaik untuk semua peubah yang diamati.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agnestiana, N. 2004. Mikropropagasi pisang Ambon Curup dengan pemberian *ammonium nitrat* dan sukrosa secara *in vitro*. Skripsi pada Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu. (*Tidak dipublikasikan*)
- Ammirato, P.V. 1986. Control and Expression of Morphogenesis in Culture. *Ed by : Withers, LA. Withers and P.G. Alderson. Plant Tissue Culture and Its Agricultural Applications. Butterworths University Press. Cambridge.*
- Anonim. 2001. Produksi Sayuran dan Buah-buahan di Propinsi Bengkulu. Biro Pusat Statistik Propinsi Bengkulu. Bengkulu.
- Aprianto, D., P. Prawito, D. Suryati, A.Romeida, Marlin, Rosehan, Abiyadi, R. Kusmantoro, dan Munir. 2004. Survei dan Penelitian Kesesuaian Lahan, Survei dan Penelitian Pohon Induk Pisang Curup Bebas Hama dan Penyakit, dan Perbanyak Bibit Unggul melalui Kultur Jaringan. Laporan Kegiatan Kerjasama antara Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kabupaten Rejang Lebong dengan Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Bhojwani, S.S. (*ed.*). 1990. Plant Tissue Culture : Applications and Limitations. Elsevier. Amsterdam.
- Damayanti, E. 2004. Multiplikasi tunas mikro pisang Ambon Curup dengan pemberian sukrosa dan BAP secara *in vitro*. Skripsi pada Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu. (*Tidak dipublikasikan*)
- Djajati, Mulyadi, dan Wahyudi. 1998. Pengaruh pemberian dolomit terhadap serangan cendawan *Fusarium oxysporum* pada tanaman pisang Ambon kuning di rumah kaca. Prosiding SEM-NAS IV PFI. Surakarta.
- George, E.F. and P.D. Sherrington, 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Dictionary of Commercial Laboratories. Exegetic Ltd. England.
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur jaringan Tumbuhan Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hakim, L.U. 2005. Pertumbuhan eksplan pisang Ambon Curup pada media MS dengan pemberian kinetin dan IBA. Skripsi pada Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu. (*Tidak dipublikasikan*)

- Kartha, K.K. 1986. Production and Indexing of Diseases-free Plants. *Ed. By* : LA. Withers and P.G. Alderson. Plant Tissue Culture and Its Agricultural Applications. Butterworths University Press. Cambridge.
- Korlina, E. Baswarsati, D. Rahmawati dan L. Rosmahani. 1997. Hubungan antara waktu tanam dan kultivar bawang merah dengan perkembangan penyakit *Fusarium oxysporum*. Prosiding Kongres XIV & SEM-NAS Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Palembang.
- Krikorian, A.D. 1982. Cloning Higher Plants from Aseptically Cultured Tissues and Cells. *Biol. Rev.* 57: 59-88.
- Ma, Y., H.L. Wang, C.J. Zhang, dan Y.Q. Kang. 1994. High Rate of Virus-free Plantlet Regeneration via Garlic Scape-tip Culture. *Plant Cell Reports* 14: 65-68.
- Marlin, Alnopri dan A. Rohim. 2000. Proliferasi tunas jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) *in vitro* dengan pemberian sukrosa dan agar powder. *Akta Agrosia* Vol. IV (2) : 44-48.
- Marlin, H. Bustamam, dan M. Taufik. 2004. Peningkatan Produksi Bibit jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri dengan Pembentukan Rimpang Mikro. Laporan Penelitian Hibah Bersaing XI. Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Marlin, N. Agnestiana, L.U. Hakim, dan E. Damayanti. 2005. Mikropropagasi Pisang Ambon Curup. Laporan Penelitian Program Kreativitas Mahasiswa. Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu. Bengkulu
- Marlin. 2000. Proliferasi tunas jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan pemberian sukrosa pada statik dan agitatik kultur *in vitro*. Laporan Penelitian Lembaga Penelitian UNIB. Bengkulu. (*Tidak dipublikasikan*).
- Marlin. 2002. Stimulasi Rimpang Mikro Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan Pemberian BAP, GA<sub>3</sub> dan Sukrosa. Laporan Penelitian Lembaga Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Marlin. 2005. Regenerasi *in vitro* Plantlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri pada Beberapa Taraf Konsentrasi 6- *Benzyl Amino Purine* (BAP) dan 1-*Naphthalene Acetic Acid* (NAA). (*Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* VII (1) 8-14.
- Moncousin, C. 1988. Adventitious Rhizogenesis Control: New developments. *Acta Hortic.* 230: 97-104.
- Mukhtasar, Fahrurrozi, dan D. Hanom. 2004. Pertumbuhan bit pisang Ambon Curup pada berbagai konsentrasi dan lama perendaman dalam asam salisilat. *Akta Agrosia* 7(2): 67-71.

- Mukhtasar. 1999. Inventarisasi Jenis Pisang yang terdapat di Propinsi Bengkulu. Laporan Hasil Penelitian. Lembaga Penelitian Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Mukhtasar. 2003. Keragaan fisik dan morfologi pisang Ambon di Bengkulu. *Akta Agrosia* 6(1): 1-6.
- Nagakubo, T., A. Nagasawa and H. Ohkawa. 1993. Micropropagation of Garlic Through *in vitro* Bulblet Formation. *Plant Cell Tissue, and Organ Culture* 32: 175-183.
- Semangun. 1991. Penyakit-penyakit tanaman hortikultura di Indonesia. Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Skoog, F. dan C.O. Miller. 1957. Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Culture *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-131.
- Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips. 1981. Growth and differentiation in Plants. Pergamon Press 3<sup>rd</sup> Ed.
- Wilson, S.B., K. Iwabuchi, N.C. Rajapakse and R.E. young. 1998. Responses of Broccoli Seedlings to Light Quality during Low Temperature Storage *In vitro*. II. Sugar Content and Photosynthetic Efficiency. *HortSci.* 33:1258-1261.
- Ziv, M. 1986. In vitro Hardening and Acclimatization of Tissue Culture Plants. *Ed. By* :L.A. Withers and P.G. Alderson. *Plant Tissue Culture and Its Agricultural Applications*. Butterworths University Press. Cambridge.

# LAMPIRAN

# DIAGRAM ALUR PENELITIAN YANG TELAH DAN AKAN DILAKSANAKAN

